101

UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

ANNÉE 1961

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU MÉTABOLISME DU CARTILAGE ARTICULAIRE

(Travail du laboratoire de Physico-Chimie de la Faculté de Médecine)

THÈSE

Pour le Doctorat en Médecine

Présentée et soutenue publiquement en Novembre 1961

PAR

Robert GUIRAUD

MEMBRES DU JURY.

MM. AUVERGNAT, *Président*
FABRE
BRU
DOUSTE-BLAZY
Assesseurs.
SARRAZIN, *Suppléant*

IMPRIMERIE BERCO

2, RUE DE LA RISPE - TOULOUSE

1961

Contribution à l'étude du Métabolisme du Cartilage Articulaire

UNIVERSITE DE TOULOUSE

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET PHARMACIE

DOYEN . . . . . MM. **Lazorthes.**
1er ASSESSEUR. . . . . **N...**
2me ASSESSEUR. . . . . **Cadenat E.**

DOYENS HONORAIRES

MM. **Gorse, Calvet, Lefebvre, Brustier.**

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. **Ribaut, Vallois, Clermont, Nanta, Ducuing, Tapie.**

SECTION MEDECINE

PROFESSEURS

Clinique médicale . . . . . MM. **Mériel.**
Clinique médicale . . . . . **Gadrat.**
Clinique chirurgicale et gynécologie . . . . . **Fabre P.**
Clinique chirurgicale et du cancer . . . . . **Grimoud.**
Clinique chirurgicale et infantile et orthopédie . . . . **Virenque.**
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques. . . . **Bazex.**
Clinique des maladies de la tuberculose et pathologie interne . . . . . **Morel.**
Clinique des maladies des voies urinaires . . . . . **Lhez.**
Clinique médicale et puériculture . . . . . **Sorel.**
Clinique neurologique et psychiâtrique . . . . . **N...**
Clinique obstétricale . . . . . **Guilhem.**
Clinique odonto-stomatologique. . . . . **Cadenat E.**
Clinique ophtalmologique. . **Calmettes.**
Clinique O.R.L. et chirurgie maxillo-faciale . . . . . **Calvet.**
Clinique traumatologique des membres . . . . . **Rieunau.**
Accouchement et obstétricie sociale . . . . . **Pontonnier.**
Anatomie . . . . . **Lazorthes.**
Anatomie appliquée. . . . . **Poulhès.**
Anatomie pathologique . . . . **Fabre J.**
Bactériologie, hygiène et médecine sociale . . . . . **Andrieu.**
Chimie biologique . . . . . **Valdiguié.**
Electro-radiologie. . . . . **Marquès.**
Embryologie générale. . . . . **Broussy J.**
Histologie. . . . . **Bimes.**
Hydrologie thérapeutique et climatologie. . . . . **Darnaud.**
Médecine légale et médecine du travail. . . . . **Planques.**
Médecine sociale . . . . . **Bounhoure.**
Parasitologie . . . . . **Bouisset.**
Pathologie chirurgicale . . . . **Dambrin.**
Pathologie générale et médecine expérimentale. . . . **Sendrail.**
Physico-chimie . . . . . **Auvergnat.**
Physiologie . . . . . **N...**
Physiologie appliquée et pharmacologie . . . . . **Baisset.**
Physique biologique et médicale. . . . . **Bugnard.**
Propédeutique médicale. . . . **Géraud.**
Thérapeutique . . . . . **Dardenne.**

PROFESSEURS A TITRE PERSONNEL

Anatomie générale et comparee. . . . . MM. **Coulouma.**
Pathologie médicale . . . . . **Laporte.**
Bactériologie . . . . . Mme **Enjalbert.**

PROFESSEURS SANS CHAIRE

Physiologie . . . . . MM. **Laporte Y.**
Biochimie médicale . . . . . **Douste-Blazy.**
Physique médicale . . . . . **Bru.**

MAITRES DE CONFÉRENCES AGRÉGÉS

Anatomie . . . . . MM. **Bastide.**
Anatomie pathologiqpe . . . . **Bouissou.**
Anesthésiologie . . . . . **Lareng.**
Carcinologie. . . . . **Estrade.**
Histologie et embryologie. . **Planel.**
Parasitologie . . . . . **Ruffié J.**
Pathologie expérimentale . . **Gleizes.**
Physiologie . . . . . **Montastruc.**
Physiologie . . . . . **Bessou.**
Physique médicale . . . . . **Commanay.**

AGRÉGÉS

Médecine générale . . . . . MM. **Monnier.**
Ribaut.
Delaude.
Calazel.
Rascol.
Chirurgie générale . . . . . **Enjalbert.**
Ficat.
Pasquié.
Souquet.
Sarrazin.
Dermatologie et syphiligraphie . . . . . **Dupré.**
Hydrologie. . . . . **Denard.**
Médecine légale. . . . . **Grèzes-Rueff.**
Obstétrique . . . . . **Espagno.**
Odontostomatologie . . . . . **Cadenat H.**
Pédiatrie . . . . . **Bardier.**
Rhumatologie . . . . . **Ruffié R.**

AGRÉGÉS LIBRES

Anatomie . . . . . MM. **Thomas.**
Ophtalmologie. . . . . **Dédatti.**
O.R.L. . . . . **Claux.**
Pathologie chirurgicale . . . . **Dieulafé.**

SECTION PHARMACIE

PROFESSEURS

Botanique et cryptogamie. . Mme **Dulucq-Mathou.**
Chimie analytique, toxicologie et hygiène industrielle MM. **Bourbon.**
Chimie pharmaceutique. . . . **Blanc.**
Matière médicale. . . . . **Vincent.**
Pharmacie chimique et pharmacodynamie . . . . . **Caujolle.**
Pharmacie galénique . . . . . **Stanislas.**
Zoologie. . . . . **N...**

PROFESSEUR A TITRE PERSONNEL

Pharmacie. . . . . M. **Couturier.**

PROFESSEURS SANS CHAIRE

Sciences naturelles. . . . . Mme **Caujolle.**
M. **Roux.**

MAITRES DE CONFÉRENCES AGRÉGÉS

Microbiologie . . . . . MM. **Breuillaud.**
Sciences Physiques . . . . . **Pitet.**
Toxicologie . . . . . **Broussy G.**

PERSONNEL ADMINISTRATIF

Secrétaire principal . . . . . MM. **Roche.**
Secrétaire. . . . . **Berrut.**

La Faculté déclare n'être pas responsable des opinions émises par les candidats.
(Délibération en date du 12 mai 1891.)

UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

ANNÉE 1961

CONTRIBUTION A L'ETUDE DU METABOLISME DU CARTILAGE ARTICULAIRE

(Travail du laboratoire de Physico-Chimie de la Faculté de Médecine)

THÈSE

Pour le Doctorat en Médecine

Présentée et soutenue publiquement en Novembre 1961

PAR

Robert GUIRAUD

MEMBRES DU JURY

MM. AUVERGNAT, *Président*
FABRE
BRU
DOUSTE-BLAZY
} *Assesseurs.*
SARRAZIN, *Suppléant*

IMPRIMERIE BERCO

2, RUE DE LA RISPE - TOULOUSE

1961

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

A MES PARENTS

A MES GRANDS-PARENTS

A TOUS LES MIENS

A MES AMIS

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546524_0051

A NOTRE MAITRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR R. AUVERGNAT

Professeur de Physico-Chimie
Chevalier de la Légion d'Honneur

Qui nous a fait le grand honneur de nous admettre parmi ses élèves.

En témoignage de notre respectueuse reconnaissance pour son inlassable et bienveillante sollicitude.

Qu'il nous soit permis de l'assurer de notre profond attachement.

A NOTRE JURY DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR P. FABRE

Professeur de Clinique Chirurgicale et Gynécologique
Officier de la Légion d'Honneur

Avec notre profonde et respectueuse reconnaissance pour l'accueil qu'il a bien voulu nous réserver dans son Service et pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de siéger à notre Jury de thèse.

MONSIEUR LE PROFESSEUR A. BRU

Professeur à la Faculté
Chargé de la Direction de la Chaire de Physique
de la Faculté de Médecine et Pharmacie

En expression de notre déférente gratitude pour la bienveillance et l'intérêt qu'il a toujours manifestés à notre égard.

MONSIEUR LE PROFESSEUR L. DOUSTE-BLAZY

Professeur à la Faculté

Avec nos respectueux remerciements pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de juger notre thèse et pour les conseils qu'il nous a prodigués dans la réalisation de ce travail.

MONSIEUR LE PROFESSEUR R. SARRAZIN

Professeur Agrégé de Pathologie Chirurgicale

En témoignage de notre reconnaissance pour l'accueil bienveillant que nous avons toujours trouvé auprès de lui.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR L. BUGNARD

Professeur de Physique Biologique et Médicale
Directeur de l'Institut National d'Hygiène
Officier de la Légion d'Honneur

En témoignage de notre déférent attachement.

A TOUS NOS MAITRES
DE LA FACULTE MIXTE DE MEDECINE
ET DE PHARMACIE

A MONSIEUR LE DOCTEUR J. ARLET

Médecin des Hôpitaux

En expression de nos respectueux remerciements pour l'appui et les conseils qu'il nous a donnés durant l'élaboration de cette thèse.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR L. COMMANAY

Maître de Conférence Agrégé de Physique Biologique et Médicale

A MONSIEUR LE PROFESSEUR P. FERRET-BOUIN

Maître de Conférence Agrégé de Physique Biologique et Médicale

A MONSIEUR LE DOCTEUR J. MOLE

A MONSIEUR J. OUSTRIN

Docteur en Pharmacie

A MONSIEUR J. P. REAUD

Pharmacien

A MONSIEUR J. BARRIUSO

A MONSIEUR G. FERRE

Aide Technique de l'I.N.H.

INTRODUCTION

Le tissu cartilagineux a par ses qualités mécaniques une place importante dans l'organisme; en effet, il n'existe pas d'éléments osseux sans un modèle cartilagineux préalable; de même une articulation ne peut pas être fonctionnelle sans qu'il ne revête les deux extrémités en présence.

Par ailleurs le métabolisme du cartilage est peu intense sans doute en raison de sa pauvreté en éléments cellulaires ou chondrocytes.

Comme tout tissu vivant, il vieillit et de par ses fonctions, peut-être même plus vite que tout autre.

Durant sa vie différents processus pathologiques peuvent l'atteindre et l'arthrose n'en est pas le moindre. Cette maladie est-elle en rapport avec des déviations de son métabolisme ? Les mécanismes de ses activités anaboliques et cataboliques nous sont encore trop étrangers pour pouvoir l'affirmer.

Sur un autre plan ses qualités de tissu ayant une certaine rigidité tout en restant modelable lui ont valu la faveur de la chirurgie réparatrice et l'apparition des greffes cartilagineuses a vu se poser dans le même temps le problème de leur conservation. Ici, donc, interviennent les possibilités qu'a son métabolisme de s'adapter à différentes conditions de survie.

Enfin, les effets curateurs de certaines thérapeutiques anti-rhumatismales bien que non définitifs sont indéniables. Modifient-elles les activités métaboliques du cartilage ? Ces modifications sont-elles à l'origine de l'effet favorable ? Toutes ces questions nous incitèrent à étudier, dans différentes conditions physiques et chimiques, la consommation d'oxygène et la glycolyse anaérobie du chondrocyte, témoins de son métabolisme, et ceci en relation avec les variations correspondantes de l'aspect histologique. Par la même occasion nous en avons profiter pour faire une mise au point bibliographique de nos connaissances sur le tissu cartilagineux.

Les phénomènes qui vont être étudiés, ne constituent que l'étape finale de processus fournissant l'énergie indispensable à la vie cellulaire; aussi il nous a paru nécessaire de faire un bref rappel de ces mécanismes.

La cellule vivante est le siège de réactions chimiques complexes assurant le maintien de son intégrité. Toutes ces réactions sont du type oxydoréducteur ; elles apportent une énergie essentiellement puisée dans le catabolisme des sucres qui peut se réaliser selon deux modes : par voie anaérobie ou par voie aérobie et c'est alors le phénomène de la respiration cellulaire.

En anaérobiose les sucres en se dégradant passent par une série d'intermédiaires tous phosphorylés et aboutissent à un composé final commun, l'acide pyruvique. Ce catabolisme se fait grâce à l'intervention de nombreux enzymes et en relation avec l'acide adénosine triphosphorique, agent phosphorylant de la glycolyse dont les liaisons chimiques à haut potentiel énergétique absorbent l'énergie apparue.

Différentes possibilités, dépendant du potentiel oxydoréducteur du milieu, s'offrent alors à l'acide pyruvique et en particulier, sa transformation par la lactico-déhydrase en acide lactique dont le dosage sera un moyen d'évaluer

la glycolyse cellulaire en anaérobiose. Mais le maximum d'énergie sera fourni par la combustion de l'acide pyruvique jusqu'au stade de l'eau et du gaz carbonique après son introduction dans le cycle de KREBS *ou cycle citrique.*

En aérobiose deux systèmes enzymatiques vont intervenir. Ce sont les transporteurs d'hydrogène et les transporteurs d'électrons ou cytochromes.

Les déhydrases vont arracher l'hydrogène au substrat et le système des transporteurs d'hydrogène ou diaphorases de GREEN *va le mener jusqu'aux cytochromes qui lui arracheront des électrons. Ceux-ci vont parcourir la chaîne des transporteurs d'électrons jusqu'à la cytochrome-oxydase ou ferment rouge de* WARBURG *qui les fixera sur l'oxygène. De cette manière l'hydrogène et l'oxygène seront conduits à des formes dites activées et pourront s'unir pour former la molécule d'eau.*

De ces deux modes de production énergétique le processus aérobie est nettement plus avantageux. Cependant ces deux mécanismes coexistent dans la cellule vivante et la prédominance de l'un ou de l'autre dépend de la valeur du potentiel d'oxydo-réduction du milieu intra-cellulaire.

Enfin cet ensemble d'enzymes merveilleusement synchronisé n'en constitue pas moins un système fragile pouvant être interrompu à n'importe quel stade et entraîner ainsi sinon la mort de la cellule du moins des déviations irréversibles de son métabolisme à l'origine, pour Otto WARBURG *de la métaplasie cancéreuse.*

CHAPITRE PREMIER

HISTORIQUE

D'une manière générale, les publications relatives au métabolisme du cartilage sont peu nombreuses et de parution relativement récente. En effet, jusqu'aux alentours de 1930, nos connaissances sur le tissu cartilagineux relevaient uniquement de l'analyse chimique et de l'examen histologique.

A partir de cette date la mise au point de la technique manométrique par Otto WARBURG, améliorée plus tard par M. DIXON, puis par W.W. UMBREIT et collaborateurs, donne le départ aux premiers travaux sur la glycolyse et la respiration de ce tissu.

Les premières publications sont celles de F. DICKENS et M. WEIL-MALHERBE parues sous le titre « Métabolisme du Cartilage », en 1936.

E.G.L. BYWATERS, en 1937, utilise la synoviale et le cartilage articulaire du cheval et tire de ses observations les conclusions suivantes :

— les chondrocytes possèdent une glycolyse qui est du même ordre que celle des autres cellules adultes mais qui diminue en l'absence du glucose. Il n'existe pas de différences certaines entre la glycolyse aérobie et anaérobie : l'inhibition due au fluorure est moindre en l'absence de glucose ;

— la consommation d'oxygène est trop faible pour être facilement appréciée ; l'addition de colorants autooxydables l'augmente environ de vingt fois, la rendant accessible à la mesure : on obtient ainsi une respiration stimulée ;

— la présence d'une déshydrogénase et l'absence d'une indophénoloxydase sont confirmées.

J.M. HILLS (1940) sur le cartilage métacarpo-phalangien du cheval, retrouve les résultats de BYWATERS. De plus, il note l'action stimulante du dinitro-ortho-crésol sur

la consommation d'oxygène. Il essaie les effets de nombreux composés sur la respiration stimulée, c'est-à-dire sur l'activité déshydrogénasique du cartilage.

— le glucose et le lactate n'apportent aucune modification. Dans l'ensemble des résultats le pyruvate est inhibiteur. Le fluorure n'a pas d'effet inhibiteur constant et peut même, en présence de bleu de méthylène à concentration optimum, avoir un léger effet activateur. Le calcium par son absence n'affecte pas les résultats. L'acide cyanhydrique augmente sa valeur d'environ un tiers ; dans ce cas, il est nécessaire de prendre des précautions spéciales afin d'éviter l'absorption de l'acide par la potasse.

Le N-heptyl-alcool est un puissant inhibiteur mais en raison de sa volatilité il est d'un maniement difficile. Enfin, l'ortho-iodo-benzoate est inhibiteur à forte concentration.

Parallèlement paraissent à cette époque les travaux de O. Rosenthal, M.A. Bowie et G. Wagoner s'échelonnant sur les années 1940, 41 et 42. Dans un premier article, ils étudient les effets du vieillissement sur la respiration et la glycolyse en rapport avec la densité cellulaire. Chaque fois ils déterminent la déviation et l'erreur standard. La numération cellulaire est faite par la détermination au microscope du nombre des noyaux; par la même méthode sont calculés les volumes moyens nucléaire et cellulaire. De plus, ils évaluent les variations du rapport de la consommation d'oxygène à la masse cellulaire. Les résultats sont les suivants :

— le cartilage de bovidé présente une diminution de 75 % de sa densité cellulaire au cours de son vieillissement normal. La glycolyse reste proportionnelle à la densité cellulaire alors que la respiration diminue plus rapidement.

L'année suivante, dans une nouvelle publication, les trois auteurs montrent que le vieillissement ne ralentit

pas l'activité déshydrogénasique du tissu cartilagineux et en concluent que la diminution de la capacité respiratoire spontanée doit être imputée au déclin des systèmes activateurs de l'oxygène. De plus ils mettent en évidence les effets stimulants du glucose sur la consommation d'oxygène en présence de bleu de méthylène.

Ces résultats sont d'ailleurs en contradiction avec ceux énoncés par HILLS mais sont confirmés par les travaux de G. KUWABARA qui utilise le cartilage du thorax de poussin. Enfin, leur dernier article a pour sujet la connaissance précise des enzymes cellulaires respiratoires et plus particulièrement de ceux appartenant au système déhydrasique. La technique est toujours celle de WARBURG, en solution physiologique et en présence de bleu de méthylène. Leurs conclusions peuvent se résumer ainsi :

— l'addition de deux milligrammes pour cent de colorant, laquelle est la concentration non toxique optimum, augmente fortement la respiration. Cette augmentation est thermolabile ; elle est la traduction des possibilités supérieures des déhydrases vis-à-vis des oxydases. Cette déshydrogénation peut intéresser, en dehors des substrats cellulaires, nombre d'autres métabolites. C'est ainsi que le glucose et le mannose se montrent les plus efficaces quant à l'augmentation de la respiration. Les hexoses non glycolysables, comme le fructose, sont sans effet. L'iodacétate, à des doses inhibant la glycolyse, abolit l'action stimulante des hexoses sur la respiration stimulée. L'interdépendance entre la déshydrogénation et la glycolyse des hexoses peut être expliquée soit par une déshydrogénation des produits de clivage de la glycolyse, soit par un couplage entre la glycolyse et la phosphorylation des hexoses, suivi par une déshydrogénation du glucose mono-phosphate ;

— le lactate ne serait pas un produit intermédiaire important de la déshydrogénation du glucose. En effet, il accélère la respiration stimulée mais cependant moins que

le glucose. De plus l'addition simultanée de ces deux composés provoque un effet de sommation ;

— le pyruvate provoque une accélération transitoire; le succinate a un effet stabilisateur, ce qui semblerait indiquer la participation de la succino-déhydrase aux réactions de déshydrogénation ;

— le quotient respiratoire des respirations stimulées et des auto-respirations sont identiques, impliquant que le caractère des combustions internes n'est pas altéré par l'addition des colorants;

le quotient respiratoire reste, de plus, constant lorsque l'on ajoute du glucose : ceci associé à l'indépendance qui semble exister entre cet héxose et l'acide lactique, laisse supposer que les échanges respiratoires bas sont dûs à une complète oxydation du glucose en acide phosphohexonique. Enfin ils expliqent l'échec des autres chercheurs par l'emploi de cartilages endommagés ou empruntés à des animaux plus âgés.

Durant la même période, Cécilia LUTWAK-MANN essaie de préciser la liste des enzymes présents dans le tissu cartilagineux :

— une phosphorylase et une désaminase sont identifiées ; la cozymase, le coenzyme de WARBURG et la cocarboxylase sont également présents et l'auteur montre qu'ils perdent leurs activités catalytiques après une incubation prolongée avec du cartilage ;

— la propriété du chondrocyte de produire de l'acide lactique à partir des sucres phosphorylés ou non fut étudiée; le résultat incertain obtenu laisse cependant supposer l'existence de deux mécanismes de production : le premier utiliserait la cozymase, le second la glyoxalase et c'est ainsi que l'on trouve le méthylglyoxal comme intermédiaire des phosphohexoses et l'acide pyruvique comme intermédiaire de l'acide phospho-glycérique ;

— le cartilage apparaît enfin incapable d'oxyder certains métabolites comme le succinate, le lactate et certaines aldéhydes qui sont rapidement catabolisés, en milieu aérobie, dans les autres tissus.

Ces dernières notions sont controversées par G. Wagoner, O. Rosenthal et M.A. Bowie qui estiment que les coupes bien trop fines employées par C. Lutwak-Mann sont responsables de la sous-estimation des possibilitsé enzymatiques du chondrocyte.

Après un arrêt d'une dizaine d'années les recherches sur la glycolyse et la respiration reprennent en 1953 avec D.M. Laskin et B.G. Sarnat dont l'attention se porte sur la conservation des greffes cartilagineuses dont l'utilisation commence à se répandre en chirurgie réparatrice. Ces auteurs utilisent le cartilage costal de lapin.

Ils mesurent la respiration et la glycolyse d'autogreffes et d'homogreffes. Ces dernières sont conservées en solution de merthiolate au 1/5000e ou par lyophilisation ; ils comparent ces résultats avec ceux donnés par le cartilage frais ou conservé dans le merthiolate ou maintenu en survie par lyophilisation. Leurs observations se résument ainsi :

— Les taux de respiration et de glycolyse anaérobie sont les plus bas de tous les tissus ;

— En anaérobiose le catabolisme des sucres prédomine. Toute activité métabolique disparaît après passage du tissu à l'autoclave ;

— Les sept jours suivant la tranplantation, la respiration et la glycolyse des autogreffes et des homogreffes diminuent de moitié. Après cette chute initiale on ne note pas de modification significative ; la majeure partie de l'activité métabolique se fait en anaérobiose ;

— Le cartilage conservé dans le merthiolate ou par lyophilisation garde environ le cinquième de ses activités normales ;

— Les greffes conservées dans le merthiolate ou par lyophilisation ne voient pas de modifications des échanges respiratoires autres que les précédentes ; on enregistre cependant une légère augmentation de l'activité en anaérobiose. Les échantillons conservés dans les mêmes conditions mais pendant des périodes plus longues (14 ou 28 jours) ne montrent pas de différence ;

— Cependant après quatre-vingt onze jours dans le merthiolate, la solution étant renouvelée à six reprises, tout échange est supprimé;

— Enfin la conservation pendant quatre-vingt quatre jours par lyophilisation ne produit pas de nouvelles chutes pour la glycolyse anaérobie ; les mesures ne furent pas poussées plus loin.

Récemment R.F. Hagerty, T.B. Calhoon, W.L. Lee et J.T. Cuttino utilisant du cartilage prélevé chez l'homme et se référant à plusieurs tests de vitalité, font l'inventaire des caractéristiques histologiques, électrolytiques et métaboliques du cartilage costal frais puis conservé dans le merthiolate au 1/4000e et le plasma, enfin greffé après ces traitements. Les chiffres trouvés pour la respiration et pour la glycolyse anaérobie à l'état normal et leurs modifications avec l'âge sont en accord avec les résultats des auteurs précédents. Le vieillissement entraîne de plus des variations électrolytiques et ils notent ainsi une diminution du potassium cellulaire et une baisse des taux de l'eau et du sodium. Il ressort de cette étude que le sodium perdu proviendrait en grande partie de la fraction engagée dans des liaisons complexes ; cette diminution ne serait que le reflet de modifications quantitatives et qualitatives des combinaisons de l'acide chondroïtine sulfurique.

La conservation dans la solution de merthiolate entraîne une mort rapide du chondrocyte comme le montre l'impossibilité de le colorer vitalement et la chute de sa glycolyse.

Les perturbations hydriques et électrolytiques sont marquées par une perte de potassium et un gain en sodum. Le cartilage stocké dans le merthiolate puis greffé présente les mêmes modifications si ce n'est une glycolyse élevée probablement dûe à l'invasion du greffon par le tissu conjonctif de l'hôte.

Conservé dans le plasma le chondrocyte ne survit que quarante à soixante jours. Durant cette période il voit sa glycolyse baisser de plus en plus rapidement puis s'annuler. Sa composition électrolytique subit des variations dues au milieu de conservation. Après greffe, il présente une glycolyse élevée résultant de l'activité des chondrocytes encore en vie, dont l'existence a été vérifiée histologiquement, et de l'activité des tissus du porte greffe qui tendent à l'envahir.

Enfin au terme d'un dernier article relatif à la survie du cartilage exposé à l'air les auteurs concluent à la supériorité de ce dernier moyen de conservation et à la préférence que l'on doit avoir pour les greffes vivantes.

Durant ces années la technique manométrique de WARBURG n'est pas la seule méthode utilisée pour connaître les mécanismes intimes du métabolisme du chondrocyte ; en effet, la mise au point des méthodes utilisant les isotopes radioactifs, les progrès de la biochimie et la meilleure connaissance des fonctions hormonales élargissent le champ d'investigation et c'est ainsi qu'à partir des années 1946-47, sont publiés de nombreux articles parmi lesquels dominent ceux qui ont trait au rapport entre l'acide chondroïtine sulfurique et le métabolisme du soufre dans le cartilage. Nous citerons les travaux de D.D. DZIEWATKOWSKY de 1951 à 1954, ceux de H. BOSTRÖM et B. MANSON de 1952 à 1954, ceux de L.F. BÉLANGER en 1954, enfin ceux de R. AMPRIMO en 1955 et de P. VALDIGUIÉ, R. AUVERGNAT, A. BRU et L. DOUSTE-BLAZY la même année;

tous ces auteurs emploient le soufre radioactif, leurs observations généralement concordantes font acte des faits suivants :

— le soufre 35 injecté sous la forme de composés simples et à concentrations physiologiques, se fixe avec prédilection dans le tissu cartilagineux et se retrouve en particulier dans la molécule d'acide chondroïtine sulfurique après son passage dans le chondrocyte : ceci est en faveur d'une synthèse intracellulaire de l'acide ;

— de nombreuses conditions physiques et chimiques gênent l'incorporation du sulfate marqué dans le cartilage et facilitent même la dégradation des complexes glucidoprotidiques dans lesquels est engagé le sulfate de chondroïtine ;

— il existerait, enfin, un certain « turn over » des ions sulfates, le soufre 35 ayant pu être décelé dans le sel de l'os ;

— la teneur en acide chondroïtine sulfurique diminuerait avec l'âge dans des proportions importantes expliquant la diminution de l'incorporation du sulfate marqué.

Toutefois dans des publications récentes, D.H. Collins et G. Meachim montrent que lorsqu'il est atteint par l'ostéo-arthrite, le chondrocyte voit son avidité augmenter pour les composés soufrés marqués : ils interprètent ce phénomène comme une exacerbation de l'activité chondrocytaire probablement dûe aux conditions locales et à la diminution des mucopolysaccharides.

Nous n'avons considéré dans cette historique que les travaux relatifs aux activités métaboliques du cartilage, nous devons signaler cependant que durant la même période a été publiée une foule d'articles relatifs à la composition chimique et à l'histologie de ce tissu à l'état normal et pathologique ; ces publications englobent aussi dans leurs études le cartilage ossifiable. Les principaux sujets traités sont : le mécanisme précis de la glycolyse, les teneurs en acide chondroïtine sulfurique, en hexoses

aminés et leurs variations, enfin les modes probables de synthèse des chondroïtines sulfates ; sur le plan histologique tous les articles sont dominés par le problème de la réparation des lésions du tissu cartilagineux. Etant donnés leurs rapports indirects avec le métabolisme du cartilage articulaire nous ne les citerons que dans la bibliographie.

Il n'en reste pas moins au terme de ce bilan et malgré les perfectionnements sans cesse grandissants des méthodes de recherche, que le tissu cartilagineux est loin d'avoir livré le secret de son métabolisme et que l'attristante notion d'irréversibilité de ses lésions reste encore valable.

CHAPITRE II

MATÉRIEL & TECHNIQUE

MATÉRIEL.

Le cartilage utilisé était celui des articulations métatarso-phalangiennes et inter-phalangiennes proximales de veau. Il s'écoulait environ sept heures entre la mort de l'animal et le prélèvement. Pendant ce laps de temps les articulations, fermées et non pelées, étaient maintenues au congélateur. Après ouverture et nettoyage de l'articulation le cartilage était prélevé au bistouri en minces lamelles tangentiellement à la surface articulaire, placé dans un milieu physiologique puis coupé en petits fragments de 1 mm × 2 mm × 0,3 mm environ; ces dimensions d'après la formule de WARBURG n'empêchent pas la pénétration de l'oxygène au centre du fragment.

L'épaisseur limite est donnée par la formule : $d = \frac{\sqrt{8\ Co\ D}}{\sqrt{a}}$ (D : constante de diffusion, Co : concentration à la surface ; a : taux de formation ou de consommation de la substance diffusante).

Des quantités de trois cents à six cents milligrammes de cartilage frais et humide ainsi préparées étaient pesées avant d'être placées dans les flacons de WARBURG. Dans les périodes où le cartilage n'était pas manipulé, il était maintenu à basse température. Le milieu de suspension était préparé selon les indications de DIXON avec ou sans glucose et tamponné différemment suivant le phénomène étudié. C'est ainsi que pour la mesure de la consommation d'oxygène il avait la constitution suivante :

96 parts d'une solution de C1Na à 9 pour mille,

2 parts d'une solution de C1K à 11,4 pour mille,

2 parts d'une solution de C12Ca à 8,5 pour mille,

1,8 parts d'une solution de PO4H2Na à 10,2 pour mille,

8,2 parts d'une solution de PO4HNa2 à 12,07 pour mille.

Ce qui donne la composition suivante :

Na^+ 150 milliéquivalents Cl^- 154 milliéquivalents
K^+ 3 milliéquivalents $PO4H^{--}$ 2 milliéquivalents
Ca^{++} 3 milliéquivalents

Enfin le pH était voisin de 7,40.

Dans le cas de la glycolyse anaérobie, les phosphates étaient remplacés par 20 cm³ d'une solution de bicarbonate de sodium à 12,8 pour mille saturée en gaz carbonique : soit trois milliéquivalents de CO^3H^- et 3 milliéquivalents de Na^+.

Dans ce dernier cas le pH était voisin de 8. Enfin on ajoutait suivant les circonstances deux centimètres cubes d'une solution de glucose anhydre à 10 pour cent que l'on préparait extemporanément.

Nous verrons plus loin les modifications que nous apportions à ces compositions dans certaines expériences.

TECHNIQUE.

C'est la technique manométrique de WARBURG utilisant les manomètres à liquide de BRODIE (d = 1,033) et des flacons jaugés. Dans le cas de la respiration, connaissant son ordre de grandeur faible, nous ajoutions dans la plupart des manipulations 0,15 cm³ de bleu de méthylène à un pour deux mille; nous obtenions alors une respiration stimulée nettement mesurable et témoin de l'activité déshydrogénasique du cartilage.

L'absorption du gaz carbonique dégagé était réalisée par 0,3 cm³ de potasse à deux pour cent renouvelée à chaque expérience et placée dans la cupule centrale des flacons où elle imbibait un petit rouleau de papier filtre. Dans le cas de la glycolyse, l'acide lactique formé, agissant sur le bicarbonate, dégageait un volume de gaz carboni-

que proportionnel à son poids à condition que le milieu fut saturé par ce gaz : le milieu gazeux employé était ici un mélange de 95 pour cent d'azote et de 5 pour cent de gaz carbonique. Dans la mesure de la respiration on utilisait l'oxygène pur. De plus, les solutions salines employées étaient préalablement dégazées puis saturées par le mélange gazeux utilisé. Ces précautions étant prises la lecture des résultats ne commençait qu'après dix minutes d'équilibration thermique à 38°C dans le bain thermostatique de l'appareil de WARBURG. La durée des expériences variait entre 60 et 120 minutes avec lecture toutes les dix minutes. A la fin, les résultats étaient exprimés en mm^3 de gaz par gramme de cartilage sec et par heure (QO_2/mg/h ou QCO_2/mg/h) ou en mm^3 pour un poids donné de tissu frais.

Vérification histologique :

Nous l'avons faite autant de fois que possible par coloration vitale au rouge neutre ; la concentration finale du colorant était d'environ 1/20 000e afin d'éviter la cristallisation du rouge et la coloration de la matrice. Le colorant était dissous dans une solution dont la composition électrolytique a été envisagée plus haut ; les coupes étaient plongées dans cette solution puis placées à l'étuve à 38°C pendant vingt minutes. On faisait alors l'observation entre lame et lamelle dans une goutte de liquide physiologique.

Il est enfin nécessaire de préciser que chaque expérience ne portait que sur le cartilage prélevé sur le même pied de veau..

CHAPITRE III

RESULTATS

Nous avons divisé les résultats de nos travaux en deux groupes très inégaux.

Dans le premier nous avons étudié la respiration et la glycolyse normale du cartilage articulaire de veau et les effets des variations de concentrations des composants habituels du milieu de suspension sur ces mesures.

Dans le deuxième groupe nous avons essayé d'analyser l'action des composés soufrés et de l'hydrocortisone ainsi que la répercussion des variations du pH sur l'activité métabolique du chondrocyte.

PREMIÈRE PARTIE

L'étude de l'autorespiration, de la respiration stimulée et de la glycolyse anaérobie de plusieurs cartilages dans les conditions normales, nous a permis de noter des fluctuations importantes d'un animal à l'autre, liées probablement à la différence d'âge.

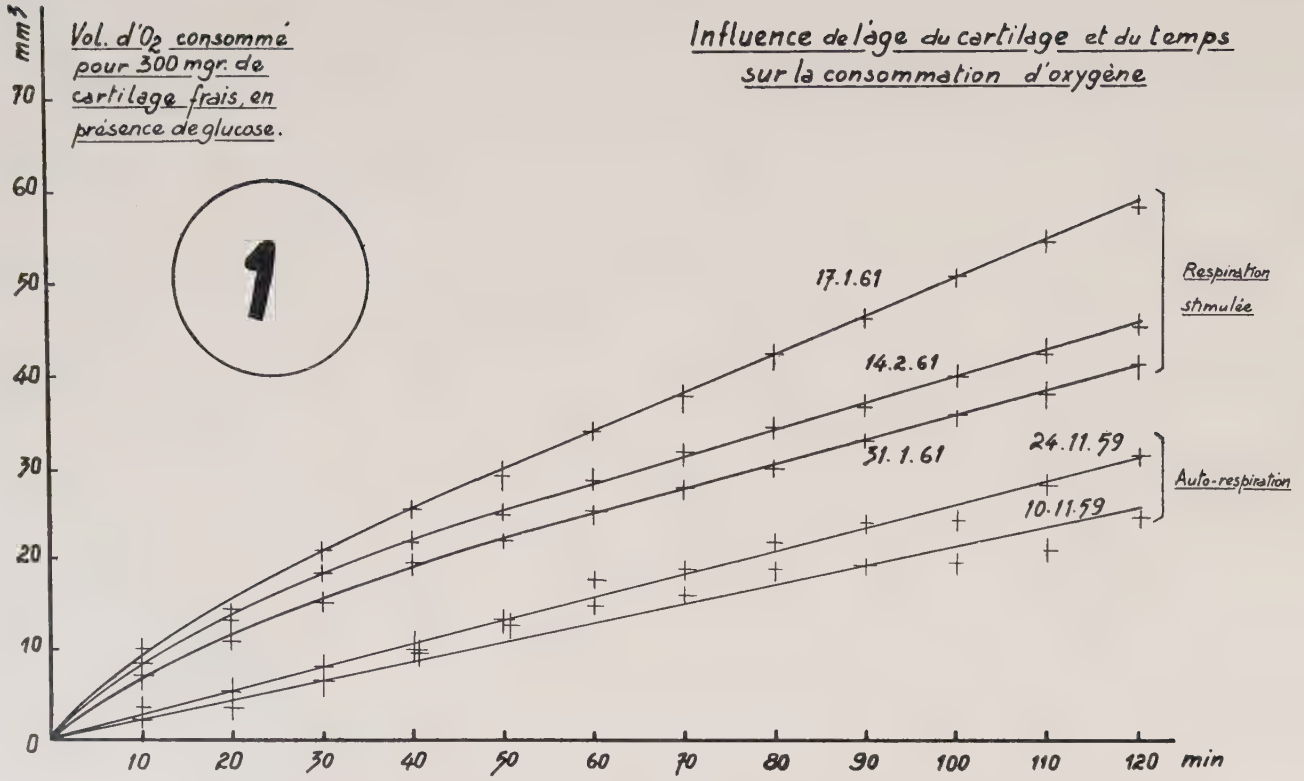
Ces résultats nous ont servi de référence pour la suite de nos travaux.

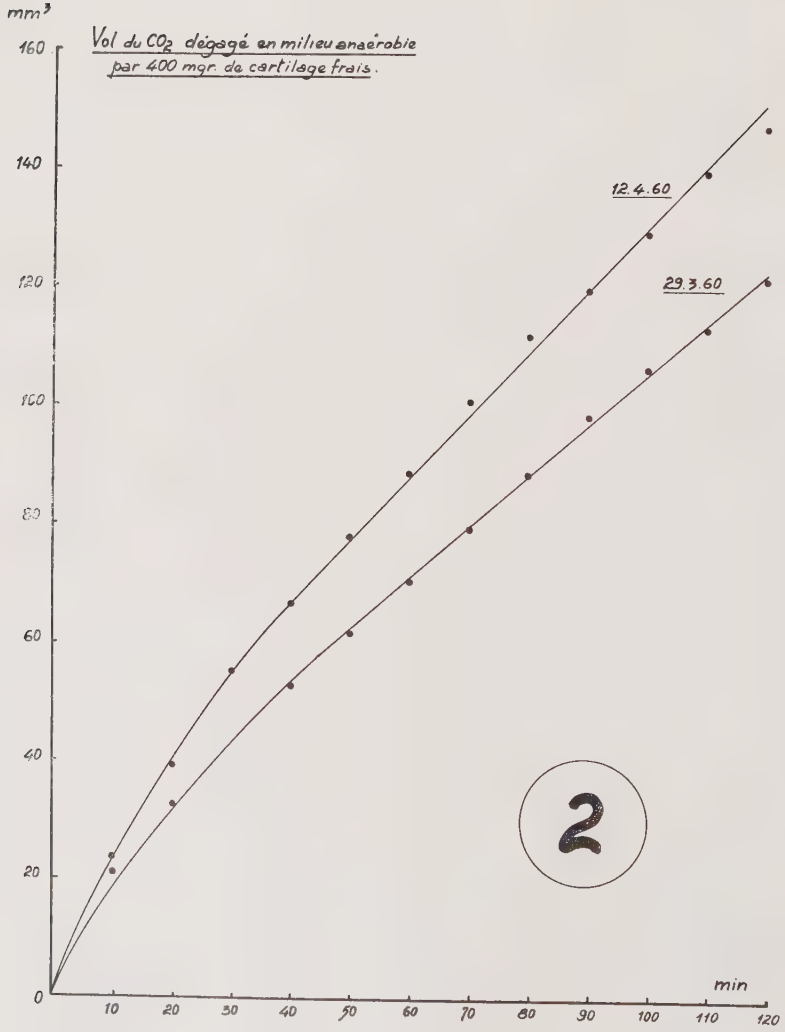
Nous avons ensuite effectué plusieurs expériences avec des quantités variables de cartilage sans faire varier les concentrations des constituants du milieu, afin de vérifier dans le cas de la respiration, si l'oxygénation de celui-ci était suffisante pour la fréquence d'agitation adoptée.

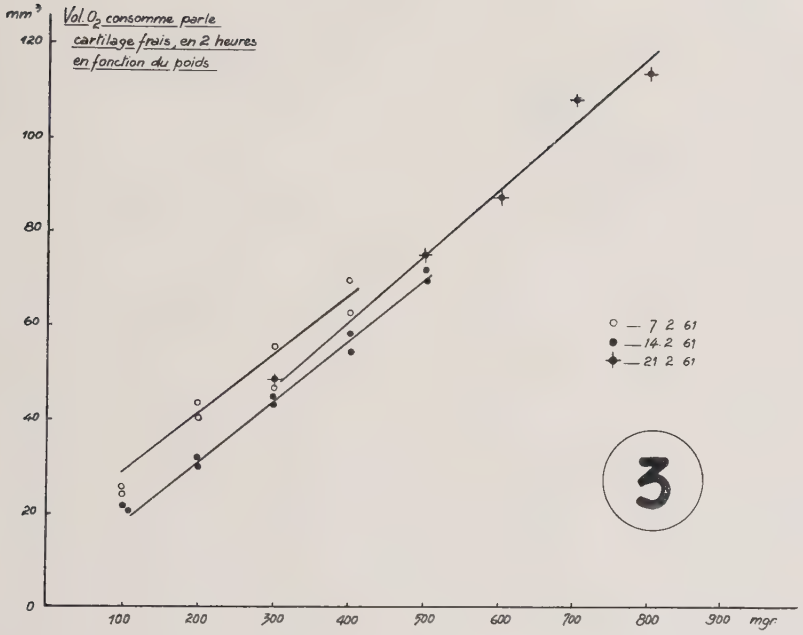
Enfin une dernière série de résultats toujours dans ce premier groupe nous a montré les effets des changements apportés dans la concentration des constituants habituels (chlorure de sodium, chlorure de potassium, chlorure de calcium) ou éventuels (bleu de méthylène et glucose) du milieu de survie.

Nous avons pu ainsi obtenir les résultats suivants :

— Respiration et glycolyse normales :
(courbes n° 1, 2 et 3),


Vol. d'O_2 consommé pour 300 mgr. de cartilage frais, en présence de glucose.
Influence de l'âge du cartilage et du temps sur la consommation d'oxygène
mm³
70
60
50
40
30
20
10
0
1
17.1.61
14.2.61
31.1.61
24.11.59
10.11.59
Respiration stimulée
Auto-respiration
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
110
120
min


mm³
Vol du CO_2 dégagé en milieu anaérobie
par 400 mgr. de cartilage frais.
160
140
120
100
80
60
40
20
0
12.4.60
29.3.60
2
min
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
110
120



— Influence de la concentration des composants électrolytiques du milieu de Dixon. Durée de ces expériences 50 minutes. Le milieu était glucosé.

	Témoin	Concentration moitié du Dixon	Concentration double du Dixon	Triple	Quadruple
17/2/59	0,285 0,315	0,25 0,24	0,26 0,28		
24/2/59	0,32 0,35	0,25 0,26	0,225 0,21		
3/3/59	0,21 0,22			0,145 0,12	0,105 0,13

— Inversion des concentrations des cations potassium et sodium donnant un milieu de composition suivante :

Na^+ 3 meq.
K^+ 144 meq.
Ca^{++} 3 meq.
Cl^- 150 meq.

On ajoutait aux électrolytes du glucose et du bleu de méthylène.

	Témoin	*Nouveau milieu*
3/3/59	0,22 0,21	0,175 0,175
10/3/59	0,24 0,23	0,21 0,19

— Milieu contenant uniquement du chlorure de sodium

	témoin	9 ‰	58,5 ‰
10/2/59	0,225 0,275	0,155 0,155	0,09 0,09

— Action de la dose de bleu de méthylène au 1/2 000e sur la respiration en présence de glucose ; durée de l'expérience 60 minutes.

	0	0,05 cm^3	0,15 cm^3	0,3 cm^3	0,6 cm^3	1 cm^3	1,2 cm^3
15/3/60			0,245 0,26		0,195 0,25		0,19 0,24
12/9/61		0,27 0,23	0,34 0,30	0,26 0,23	0,22 0,23		
19/9/61			0,27 0,27			0,26	
24/11/59	0,09 0,095		0,27 0,28				

	0	5,5 mg %	11 mg %	22 mg %	44,5 mg %	89 mg %	178 mg %	356 mg %	712 mg %
24/1/61					0,26 0,265	0,29 0,305	0,22 0,27	0,28 0,30	0,29
31/1/61	0,225 0,21	0,245 0,22	0,25 0,255	0,24 0,25			0,255 0,245		
19/9/61	0,20 0,175	0,24 0,28					0,27 0,27		

— Action du glucose sur la respiration en présence du bleu de méthylène. (Voir tableau ci-contre.)

Conclusions :

Dans les conditions normales les taux de la respiration et de la glycolyse anaérobie varient d'un cartilage à l'autre dans des proportions considérables. Il sera nécessaire d'inclure un témoin à chaque expérience.

Les courbes de respiration stimulée montrent une très nette diminution de celle-ci après les deux premières lectures. Au-delà les différences d'une lecture à l'autre sont à peu près constantes tout au moins pour les durées d'expériences envisagées.

On peut faire des remarques superposables pour la glycolyse anaérobie. Quant à l'autorespiration bien qu'irrégulière, cela tenant sans doute à la technique, elle est sensiblement linéaire.

Les modifications électrolytiques apportées au milieu dans le sens de l'hypertonicité ou de l'hypotonicité sont néfastes à la respiration stimulée. De même celles qui modifient la composition quantitative des différents cations.

La concentration de bleu de méthylène que nous avons employée tout au long de nos travaux a été finalement de 2,5 mg pour cent, voisine de celle employée par la plupart des auteurs. Il semble en effet qu'à cette concentration le colorant ait une action stimulante optimum.

Enfin le glucose par sa présence augmente la respiration stimulée. Pour les durées d'expérience utilisées nous n'avons pas pu mettre en évidence un seuil dans le sens des faibles concentrations. Par la suite nous avons employé toujours la même concentration de 178 mg pour cent.

DEUXIÈME PARTIE

ACTION DU pH DU MILIEU DE SUSPENSION SUR LA RESPIRATION STIMULEE

Les conditions générales étaient celles exprimées dans le chapitre « Matériel et technique ». En plus du tampon les solutions physiologiques contenaient du bleu de méthylène et du glucose aux concentrations déjà envisagées.

Solutions tampons :

Nous nous sommes adressé aux solutions tampons de CLARK et LUBS, que ce soit pour les pH acides ou alcalins.

Ces solutions étaient préparées immédiatement avant leur emploi.

Nos premières expériences ont montré une telle différence entre le pH du milieu avant introduction du cartilage et le pH après expérience que nous avons dû doubler la concentration de ces solutions, ce qui nous a permis d'obtenir une stabilité beaucoup plus grande de l'acidité ou de l'alcalinité. Nous avons constaté enfin que le pH définitif s'établissait très rapidement, moins d'un quart d'heure après le début de l'expérience.

L'apport électrolytique du tampon a été calculé et jugé suffisamment faible pour pouvoir être négligé : au maximum un milliéquivalent de potassium pour mille.

De même l'action particulière des anions phtalate et borate a été testée et s'est révélée nulle aux concentrations employées.

Appareil de mesure :

Nous avons effectué nos mesures avec le pHmètre PHILIPS G.M. 4491 à électrode de verre et à électrode de référence au calomel et dont la précision atteint le cinquantième d'unité pH. Pour chaque expérience nous avons effectué la mesure du pH du milieu de suspension avant et après évaluation de la consommation d'oxygène.

Les résultats enregistrés sur 90 minutes ont été les suivants :

(Tableaux de résultats pH acides
pH alcalins)

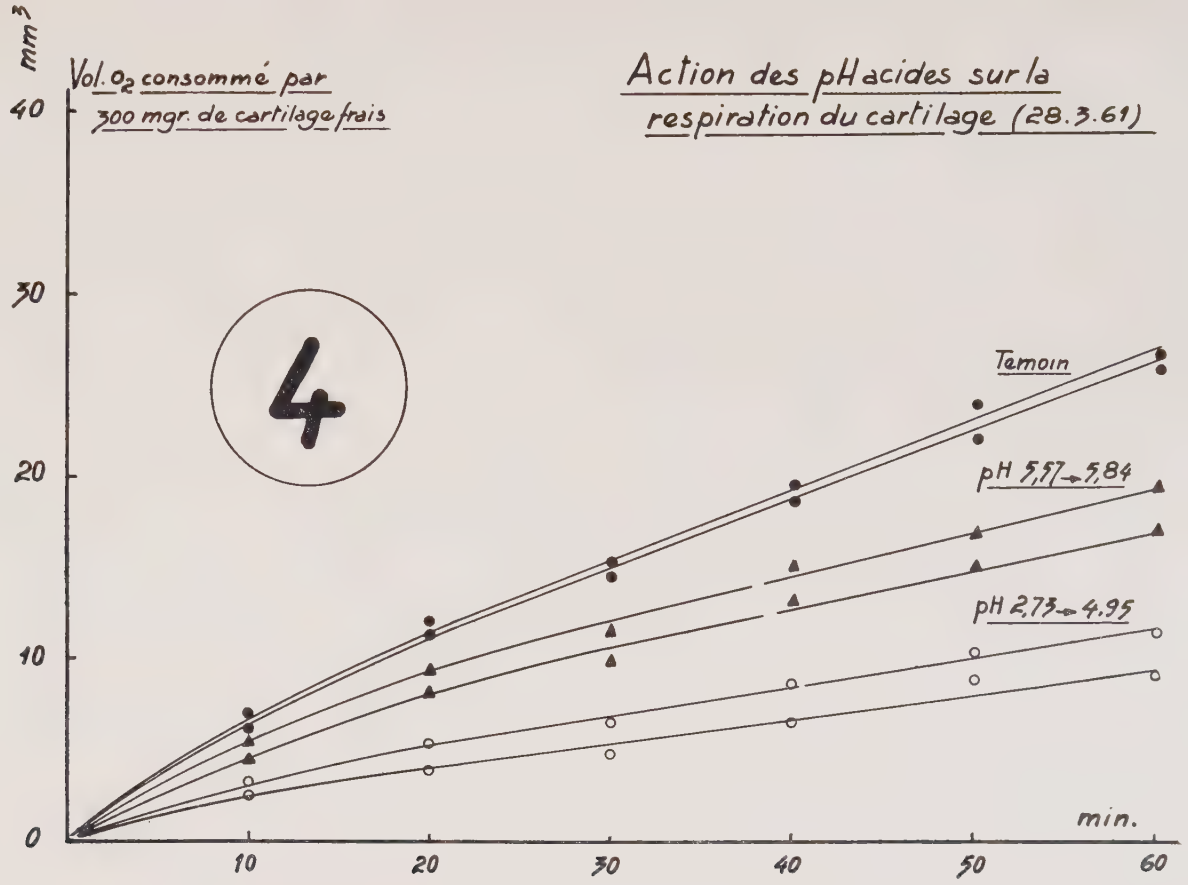
(Courbes 4).

	Témoins	*Flacons à différents pH acides*					
21/3/61		2,69	3,08	3,92			pH avant
		4,69	4,85	5,13			pH après
	0,23 0,235	0,06 0,06	0,085 0,06	0,095 0,10			Qo2/mg/h
28/3/61	7,40	2,54	2,73	6,11	5,57		pH avant
	6,70	4,87	4,95	6,28	5,84		pH après
	0,34 0,34	0,17 0,18	0,145 0,165	0,33 0,31	0,26 0,215		Qo2/mg/h
25/4/61		4,26	4,6	5,07	5,48		pH avant
		5,12	5.44	5,89	6,1		pH après
	0,30 0,31	0,14 0,165	0,155	0,22 0.215	0,23 0,25		Qo2/mg/h
2/5/61		5,70	6,03	6,21	6,37	6,59	pH avant
		6,10	6,10	6,28	6,29	6,46	pH après
	0,255 0,22	0,20 0,20	0,20 0,22	0,22 0,225	0,22 0,21	0,20 0,22	Qo2/mg/h
9/5/61	7,56	5,80	6,00	6,21	6,40	6,61	pH avant
	7,10	6,26	6,26	6,31	6,46	6,60	pH après
	0,34 0,31	0,26 0,30	0,31 0,32	0,31 0,31	0,32 0,32	0,34 0,30	Qo2/mg/h

Action des pH acides sur la respiration stimulée du cartilage.

	Témoins	*Flacons à différents pH alcalins*					
16/5/61	7,52	8,03	8,38	8,63	8,77	9,01	pH avant
	7,03	7,49	7,94	8,20	8,36	8,57	pH après
	0,34 0,34	0,33 0,32	0,365 0,31	0,31 0,36	0,285 0,31	0,28 0,26	Qo2/mg/h
30/5/61	7,33	8,38	8,59	8,84	8,98	9,19	pH avant
	7,00	7,92	8,12	8,42	8,53	8,68	pH après
	0,38 0,40	0,33 0,33	0,38 0,46	0,35 0,34	0,35 0,37	0,28 0,25	Qo2/mg/h

Action des pH alcalins sur la respiration stimulée du cartilage


mm³
Vol. O₂ consommé par
300 mgr. de cartilage frais
Action des pH acides sur la
respiration du cartilage (28.3.61)
4
Témoin
pH 5,57 → 5,84
pH 2,73 → 4,95
min.
0
10
20
30
40
50
60

A la lumière de ces résultats, nous faisons les constatations suivantes :

— La respiration stimulée reste normale pour une gamme de pH assez étendue allant de pH 6 à pH 9 environ. Cette respiration diminue très vite au-delà de ces limites et perd par exemple dans la zone acide la moitié ou les deux tiers de sa valeur quand le pH descend de une unité.

— Même pour des pH relativement bas, le cartilage présente au bout de ce laps de temps une consommation d'oxygène mesurable et égale au moins au tiers et au plus à la moitié de la consommation du témoin.

— Enfin que le pH de départ soit acide ou alcalin, le pH définitif a tendance à venir se stabiliser en fin d'expérience entre 6,4 et 7.

D'autre part les courbes de respiration à pH acide ne présentaient pas d'autre particularité qu'une pente plus faible que celle des courbes de respiration à pH normal.

Nous avons comparé ces résultats avec les données de l'examen histologique afin d'en tirer des conclusions plus générales.

Le cartilage coloré par les colorants vitaux comme le rouge neutre présente un aspect normal entre pH 6,8 et 7,4 ; dans cette zone la matrice est très faiblement colorée, les cellules ont un aspect normal et leur cytoplasme est bourré de granulations dites vitales, de couleur rouge brique.

A un pH de 6,6 la matrice cartilagineuse se colore plus nettement, les cellules gardent leur aspect normal.

A pH 6,2 la coloration de la matrice est nette et diffuse. On note la présence de quelques cellules turgescentes. Le nombre de granulations vitales diminue.

A pH 6 la turgescence augmente, le nombre de granulations vitales diminue, la matrice a le même aspect.

Enfin à pH 5,8 la turgescence est alors très nette. Il persiste très peu de granulations vitales.

Au-dessous de pH 5,8 il n'est pas possible de mettre en évidence une coloration vitale.

Dans le domaine des pH alcalins, l'aspect observé est normal jusqu'à pH 9, seule varie la teinte des granulations vitales qui tire alors sur l'orangé : leur nombre ne varie apparemment pas.

Précisons pour terminer que toutes ces observations ont eu lieu une demi-heure après la mise des coupes dans le colorant et que l'aspect observé persistait longtemps après le début de l'examen.

Au terme de l'énoncé de tous ces résultats nous avons essayé de conclure.

Bien que nous ayons trouvé une zone de pH relativement large dans laquelle la consommation d'oxygène reste constante, il faut insister sur le fait que nos expériences n'ont duré que 90 minutes et qu'il est fort plausible que cette bande de pH serait allée en s'amenuisant pour des temps plus longs.

De même en présence de pH assez acides (4,5 à 5), la respiration ne s'abolirait-elle pas complètement au bout d'un temps suffisant compte tenu des variations du témoin ?

De toute manière ces résultats montrent que le cartilage est capable de résister à des pH acides et alcalins assez forts et cela, peut-être, par la mise en jeu d'un système tampon qu'il apporterait avec lui et qui lui permettrait de résister aux variations brutales de pH du milieu extérieur. Cette existence semble d'ailleurs prouvée par l'évolution du pH du milieu de suspension en présence de cartilage.

Enfin la rapidité d'installation du pH définitif semble montrer qu'il n'est pas déterminé par l'effet tampon des substances issues du métabolisme et surtout qu'il est nécessaire de mesurer ce pH après une préincubation du cartilage dans son milieu de conservation.

ACTION DE L'HYDROCORTISONE SUR LA RESPIRATION STIMULEE

Le milieu physiologique employé dans cette série d'expériences a toujours été additionné de bleu de méthylène. Nous avons ajouté dans certains cas du glucose.

Hydrocortisone :

Nous avons fait appel à une hydrocortisone libre à fonction alcool. Elle était dissoute dans le milieu de suspension à raison de 0,5 à 1,5 mg par centimètre cube, soit par autoclave (120° pendant 20 minutes), soit plus simplement par une courte ébullition ; il était habituellement difficile de dépasser la concentration de 1,5 mg par centimètre cube.

Résultats :

Les expériences ont eu une durée de 120 minutes et ont donné les résultats ci-dessous que nous avons divisés en deux rubriques :

1° Effet de l'hydrocortisone sur la respiration stimulée en l'absence de glucose.

Dans le tableau de résultats et pour chaque flacon sont donnés deux chiffres, l'un correspond à la consommation d'oxygène pendant la première heure de l'expérience, l'autre correspond à la deuxième heure.

Date de l'exp.	*Témoins*	*Flacons avec hydrocortisone à la concentration de*			
		0,5 mg/cm³	1 mg/cm³	1,5 mg/cm³	2 mg/cm³
22.X	0,23-0,19 0,23-0,17		0,18-0,08 0,16-0,08 0,18-0,08 0,20-0,08 0,18-0,10 0,15-0,09		
29.X	0,15-0,13 0,15-0,11			0,14-0,02 0,12-0,04 0,12-0,02	
29.X	0,10-0,06			0,04-0 0,08-0 0,11-0,01	
12.XI	0,20-0,10 0,20-0,12	0,18-0,06 0,17-0,07 0,14-0,08	0,14-0,05 0,14-0,04	0,11-0,03	0,14-0,02 0,15-0,05 0,09-0,03
26.XI	0,25-0,15 0,21-0,13	0,14-0,10 0,22-0,14 0,22-0,10	0,24-0,14	0,15-0,09 0,14-0,08 0,13-0,05	0,10-0,06 0,19-0,11 0,15-0,11
17.XII	0,14-0,14 0,15-0,13		0,04-0,02 0,08-0,06		

Effet de l'hydrocortisone sur l'auto-respiration stimulée. Chaque groupe de deux chiffres indique la consommation d'O_2 (en mm³ par mg de cartilage sec et par heure) pour un flacon donné, pendant la première heure et pendant la deuxième heure de l'expérience.

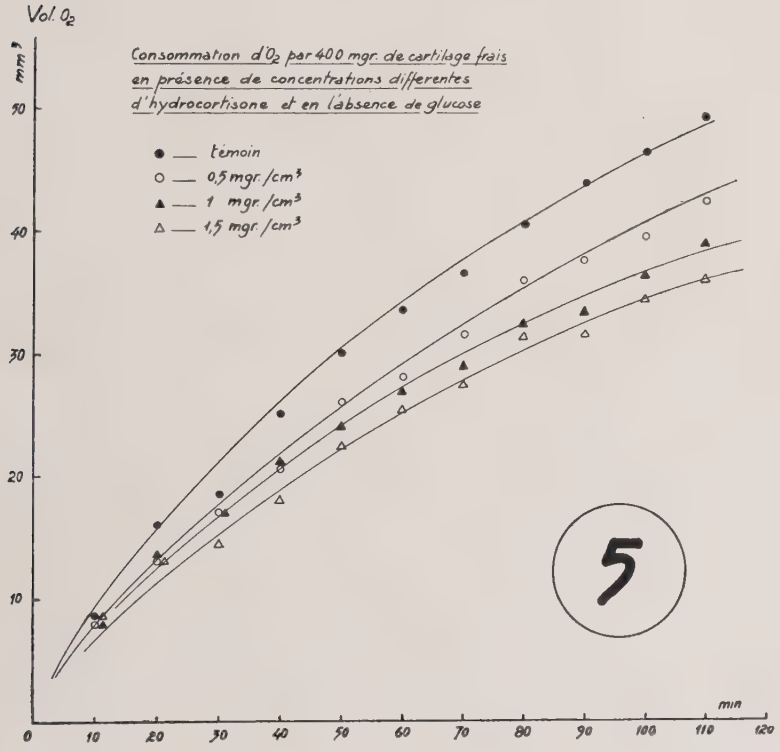
Ces chiffres nous permettent de faire différentes constatations :

— dans tous les cas il y avait une réduction nette de la consommation d'oxygène dans les flacons contenant de l'hydrocortisone par rapport aux flacons témoins ;

— dans tous les cas cette réduction était plus importante au cours de la deuxième heure de respiration ;

— dans les limites de notre expérience avec des concentrations d'hydrocortisone comprises entre 0,5 mg et 2 mg par centimètre cube de milieu, l'importance de la réduction de la respiration était sensiblement proportionnelle à la concentration d'hydrocortisone comme l'illustrent les courbes ci-dessous :

— la rapidité de l'inhibition était proportionnelle à la concentration de l'hydrocortisone dans le milieu (courbes n° 5).



2° Effet de l'hydrocortisone sur la respiration stimulée en milieu sucré.

Nous retrouvons dans ce tableau comme dans le précédent un chiffre pour la première heure et un pour la deuxième.

Date de l'exp.	*Témoins*	*Flacons avec hydrocortisone à la concentration de*		
		0,5 mg/cm³	1 mg/cm³	1,5 mg/cm³
5.XI	0,28-0,20 0,25-0,21	0,28-0,18 0,24-0,16 0,28-0,20	0,26-0,20 0,22-0,10 0,24-0,14	0,20-0,12 0,24-0,18 0,20-0,12
25.III	0,27-0,19 0,34-0,14		0,28-0,16 0,30-0,20	
25.XII	0,25-0,11		0,21-0,11 0,20-0,12	

Effet de l'hydrocortisone sur la respiration en milieu sucré.

L'examen de ces résultats montre que l'effet inhibiteur, s'il existe, est beaucoup moins net en l'absence de glucose.

Nous avons associé à ces mesures les observations histologiques que nous avons faites parallèlement.

La présence d'hydrocortisone à des concentrations semblables à celles que nous avons utilisées dans les expériences manométriques empêche la coloration vitale du cartilage sans toutefois entraîner la mort de la cellule et ceci uniquement lorsque le cartilage a été laissé en contact plus de 20 minutes avec la solution d'hydrocortisone.

Discussion :

Comme on le sait, l'hydrocortisone ou cortisol est une hormone cortico-surrénalienne à action glucocorticoïde facilitant la synthèse des glucides animaux, du glycogène essentiellement et défavorisant leur dégradation, c'est-à-dire s'opposant à la glycolyse.

On peut donc concevoir que l'action inhibitrice de l'hydrocortisone sur la respiration du chondrocyte soit inaugurée par une diminution de la glycolyse entraînant ainsi une baisse de la consommation d'oxygène. L'action du glucose dans la deuxième série d'expériences s'expliquerait alors par une « action de masse » diminuant par là l'inhibition.

D'autre part, il n'est pas impossible que parallèlement l'hormone en se dégradant permette l'apparition de stéroïdes différents.

Enfin, d'après les données histologiques, l'hydrocortisone serait à l'origine d'une modification de la perméabilité de la membrane cellulaire qui modifierait la qualité de ses échanges avec le milieu extérieur.

En conclusion, l'hydrocortisone modifie sans conteste certains phénomènes témoins de la vitalité cellulaire tels que la respiration ou la coloration vitale, mais il ne nous est pas encore possible d'expliquer autrement que par des hypothèses les mécanismes intimes de cette action.

ACTION DES COMPOSES SOUFRES SUR LA RESPIRATION ET LA GLYCOLYSE DU CARTILAGE

Composés utilisés :

Nous avons essayé successivement l'action du sulfate, du thiosulfate et du sulfure. Pour ce dernier, nous nous sommes heurtés à des difficultés qui nous ont fait abandonner l'étude de son action.

Tous ces composés étaient sous la forme de sel sodé. Cependant la plus importante partie de nos travaux a porté sur l'action de la l(—) cystéine sous forme de chlorhydrate.

Concentrations employées :

Pour chaque composé nous avons essayé des concentrations fortes et faibles. Dans le cas de la cystéine nous avons utilisé une gamme beaucoup plus variée.

Enfin les quantités employées étaient pesées immédiatement avant leur introduction dans la solution physiologique puisque l'on connaît l'instabilité de certains de ces produits comme la cystéine en particulier.

Précautions spéciales :

Pour certains de ces composés, nous avons été amené à modifier légèrement le protocole expérimental et c'est ainsi que pour la cystéine, sa présentation sous forme de chlorhydrate nous a obligé à vérifier les modifications de pH qui résultaient de son addition au milieu de suspension.

Technique spéciale :

Ce fut essentiellement le dosage de la cystéine selon Anson et Mirsky modifié par Desnuelle et Rovery.

Principe :

Les radicaux thiols réduisent le ferricyanure en ferrocyanure, lequel est transformé par un sel ferrique en bleu de Prusse que l'on dose colorimétriquement.

Dosage :

Nous ne donnerons pas ici les détails du dosage ne signalant que les originalités de la méthode telle que l'addition d'un composé tensio-actif comme le dodécylsulfate qui permet de maintenir les particules de ferrocyanure ferrique en suspension pendant un laps de temps suffisamment long pour permettre le dosage.

Lecture colorimétrique :

Elle doit se faire entre 700 et 750 millimicrons. Nous avons employé l'électrophotomètre de Meunier à deux cellules photoélectriques en opposition et nous avons effectué la lecture avec l'écran 72 présentant un maximum de transmission vers 25 millimicrons.

Etalonnage :

Il a été effectué avec les solutions utilisées comme milieu de suspension du cartilage. Nous avons chaque fois vérifié la teneur en cystéine des flacons témoins sans cartilage ; elle s'est avérée constante à 5, à 8 pour cent près.

Résultats :

— Action du sulfate en milieu aérobie, en présence de glucose et de bleu de méthylène et pendant 60 minutes.

	témoin	15,1 mg/112 cm³	151 mg/112 cm³
5/9/61	0,28 0,33	0,31 0,335	0,31 0,32

Milieu anaérobie et pendant 50 minutes

	témoin	151 mg/112cm³
5/5/59	0,26 0,24	0,26
26/6/59	0,28 0,265	0,275 0,30

Dans un cas comme dans l'autre, on ne note pas de différence significative avec le témoin.

— Action du thiosulfate en aérobiose pendant 50 minutes : le milieu est glucosé et contient également du bleu de méthylène.

	témoin	60 mg/112 cm³
7/4/59	0,30 0,29	0,29 0,25

L'addition de thiosulfate ne semble pas modifier la respiration stimulée.

— Action de la cystéine :

Nous avons fait avec ce composé trois séries d'expériences dont nous envisagerons les résultats successivement.

1° Expériences en aérobiose utilisant des concentrations de chlorhydrate de cystéine variables avec ou sans bleu de méthylène mais toujours avec du glucose.

Avec bleu de méthylène.

(Tableau et courbe n° 6).

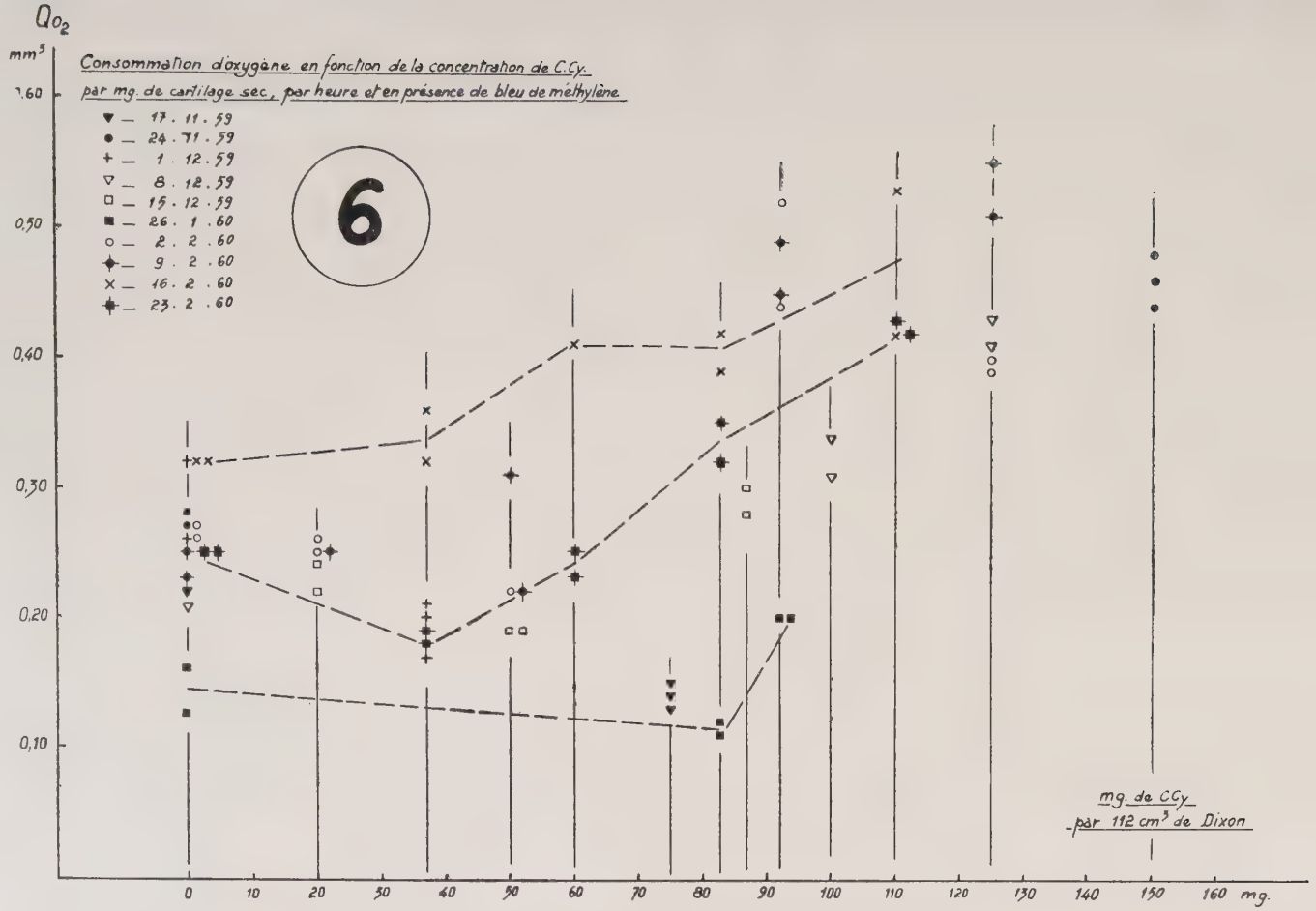
Sans bleu de méthylène.

(Tableau et courbe n° 7).

En présence de bleu de méthylène, nous notons pour les concentrations faibles et moyennes, soit une conservation de la respiration à son taux normal, soit une légère hausse, mais le plus souvent une diminution.

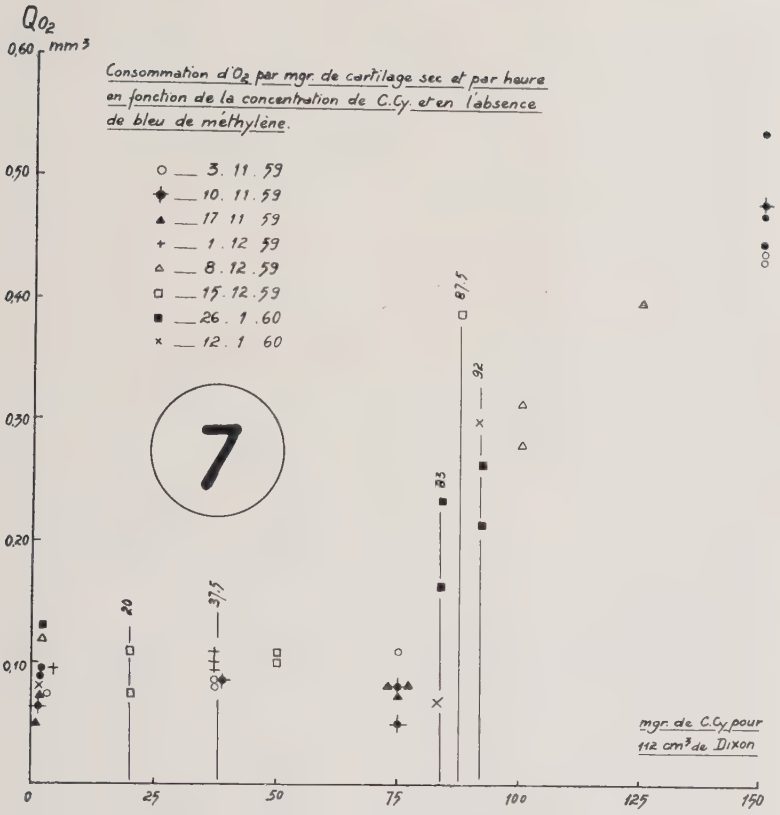
	Témoin	20 mg/ 112 cm²	37,5 mg/ 112 cm³	50 mg/ 112 cm³	60 mg/ 112 cm³	75 mg/ 112 cm³	83 mg/ 112 cm³	87,5 mg 112 cm³	92 mg/ 112 cm³	100 mg/ 112 cm³	110 mg/ 112 cm³	125 mg/ 112 cm³	150 mg/ 112 cm³
17/11/59	0,215					0,13 0,14 0,155							
24/11/59	0,27 0,28												0,46 0,48 0,44
1/12/59	0,32 0,265		0,175 0,21 0,20										
8/12/59	0,215									0,31 0,34		0,435 0,41	
15/12/59		0,24 0,22		0,19 0,19				0,305 0,285					
26/1/60	0,16						0,11 0,125		0,20 0,20				
2/2/60	0,27 0,265	0,25 0,26		0,215					0,44 0,515			0,385 0,40	
9/2/60	0,255 0,23	0,255		0,22 0,315					0,45 0,495			0,55 0,515	
16/2/60	0,32 0,32		0,325 0,36		0,41		0,425 0,39				0,535 0,43		
23/2/60	0,25 0,25		0,185 0,19		0,23 0,255		0,32 0,35				0,42 0,43		

Action de concentrations variables de chlorhydrate de cystéine sur la respiration du cartilage en présence de bleu de méthylène et pendant 120 minutes (résultats en mm³ d'oxygène par milligramme de cartilage sec et par heure).


Q_{O_2}
mm³
Consommation d'oxygène en fonction de la concentration de C.Cy.
par mg. de cartilage sec, par heure et en présence de bleu de méthylène
▼ — 17 . 11 . 59
● — 24 . 11 . 59
+ — 1 . 12 . 59
▽ — 8 . 12 . 59
□ — 15 . 12 . 59
■ — 26 . 1 . 60
○ — 2 . 2 . 60
✦ — 9 . 2 . 60
× — 16 . 2 . 60
✱ — 23 . 2 . 60
6
1,60
0,50
0,40
0,30
0,20
0,10
0 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110 120 130 140 150 160 mg.
mg. de CCy
par 112 cm³ de Dixon

	Témoins	20 mg/ 112 cm³	37,5 mg/ 112 cm³	50 mg/ 112 cm³	75 mg/ 112 cm³	83 mg/ 112 cm³	87,5 mg/ 112 cm³	92 mg/ 112 cm³	100 mg/ 112 cm³	125 mg/ 112 cm³	150 mg/ 112 cm³
3/11/59	0,075		0,08 0,085		0,11						0,44 0,435
10/11/59	0,065 0,075		0,085		0,05 0,08						0,48
17/11/59	0,085 0,05				0,08 0,075 0,08						
24/11/59	0,095 0,09										0,475 0,445 0,54
1/12/59	0,095		0,06 0,10 0,11								
8/12/59	0,12								0,315 0,28	0,405	
15/12/59		0,075 0,11		0,10 0,105			0,39				
12/1/60	0,08					0,06		0,30			
26/1/60	0,13					0,165 0,235			0,265 0,215		

Action de concentrations variables de chlorhydrate de cystéine sur la respiration du cartilage en l'absence de bleu de méthylène et pendant 120 minutes (résultats en mm³ d'oxygène par milligramme de cartilage sec et par heure).



Quand on se dirige vers les fortes concentrations on remarque une brusque augmentation de la consommation d'oxygène qui devient alors sensiblement proportionnelle à la concentration en chlorhydrate de cystéine. Cette augmentation brutale a lieu pour des quantités d'acide aminé variant d'un cartilage à l'autre mais se situant généralement au milieu de la gamme employée.

Nous avons constaté enfin après l'expérience que la décoloration du bleu de méthylène était nettement plus marquée dans les flacons avec cartilage seul que dans ceux où il s'y trouvait associé à la cystéine.

La décoloration était minimum dans les flacons contenant les plus fortes quantités de l'acide aminé.

Nous avons grossièrement mesuré ces différences de coloration avec le colorimètre de Dubosco immédiatement après l'expérience et nous avons noté une sensible proportionnalité entre la concentration en cystéine et la coloration du bleu de méthylène.

En l'absence de colorant il n'y a pas de modification notable de l'autorespiration jusqu'à des concentrations moyennes ; au-delà nous notons une augmentation comparable à celle constatée pour les expériences avec colorant.

Enfin dans aucun de ces cas nous n'avons enregistré de différence significative entre les consommations d'oxygène de la première heure et de la deuxième heure.

Nous avons terminé cette première série d'expériences sur l'action des concentrations variables de cystéine par différentes observations annexes destinées à nous faire mieux comprendre les résultats précédents.

C'est ainsi que nous avons étudié la consommation d'oxygène en présence de cystéine mais en l'absence de cartilage.

Chaque fois le glucose était présent mais le bleu de méthylène n'était pas additionné systématiquement ; les mesures portaient sur 120 minutes et s'exprimaient en millimètres cubes d'oxygène.

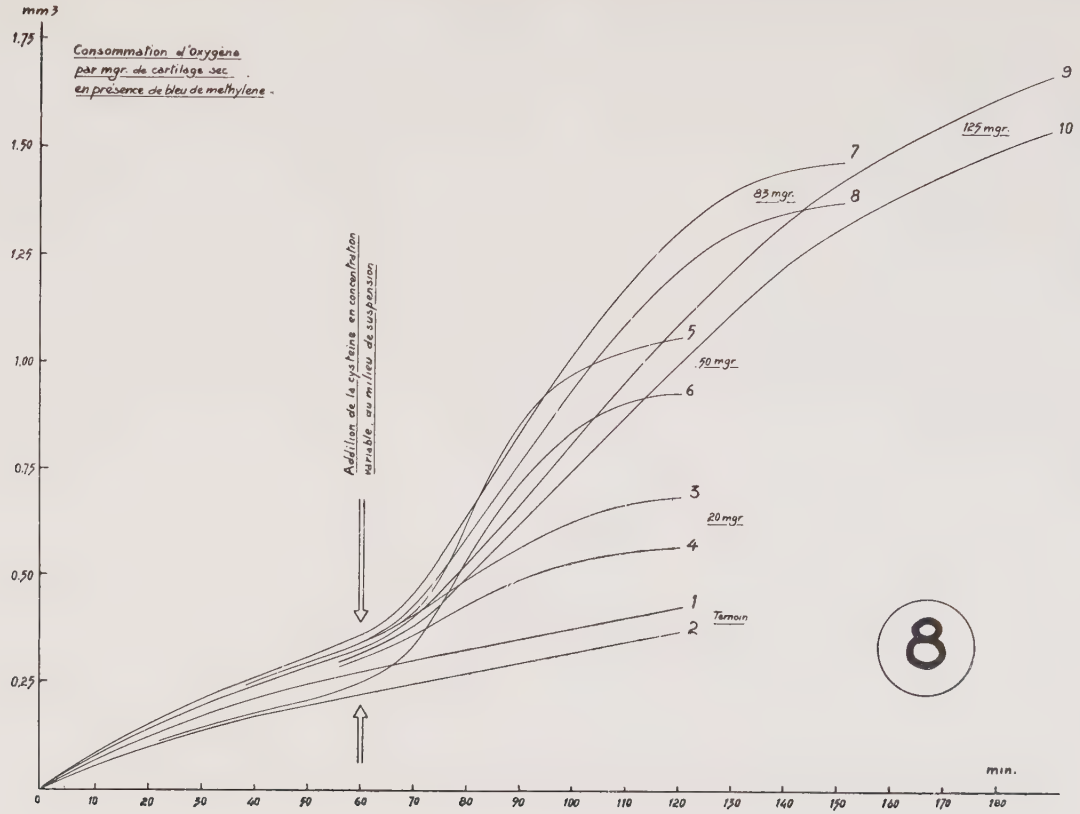
5/1/60	20 mg pour 112 cm³	50 mg pour 112 cm³	87,5 mg pour 112 cm³
Avec bleu de méthylène	30 mm³ 29 mm³	56 mm³ 67,5 mm³	64,5 mm³ 59 mm³
Sans bleu de méthylène	27 mm³ 25,5 mm³	50,5 mm³ 55,5 mm³	58 mm³ 57,5 mm³

Nous avons ainsi constaté que dans les conditions précisées plus haut, il y avait disparition d'une quantité d'oxygène importante ; elle augmentait avec la concentration en composé soufré mais sa valeur n'était pas modifiée par la présence de bleu de méthylène dont la coloration restait comparable à celle des flacons témoins sans cystéine.

Nous avons réalisé alors une dernière variante d'expérience dans laquelle nous placions l'acide aminé dans les appendices que comporte chaque flacon. Nous ne l'ajoutions au milieu de respiration qu'une heure après le début des mesures. La concentration de cystéine employée était telle qu'une fois diluée dans le contenu total du flacon on retrouvait les concentrations des premières expériences. L'exiguité du récipient empêchait son contenu d'être agité et d'être ainsi en contact étroit avec l'oxygène.

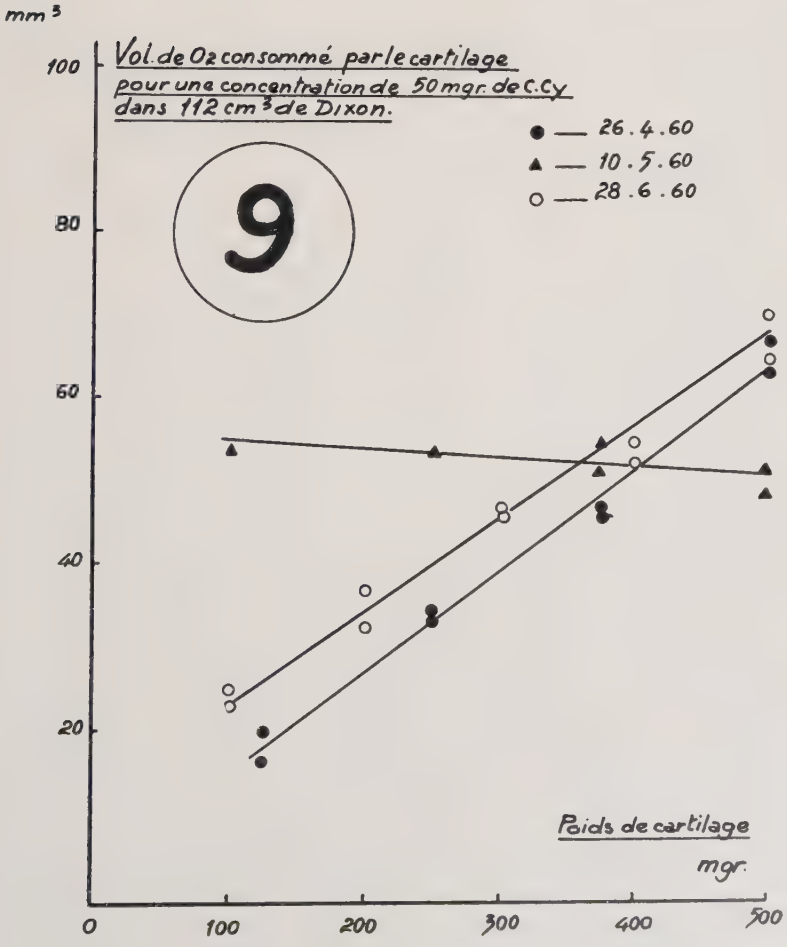
Nous avons obtenu chaque fois des résultats illustrés par les courbes (8) qui montrent pendant la première heure une dispersion faible des consommations d'oxygène. A partir du moment où l'on additionne la cystéine il y a augmentation brutale de la pente des courbes témoignant d'une consommation d'oxygène accélérée.

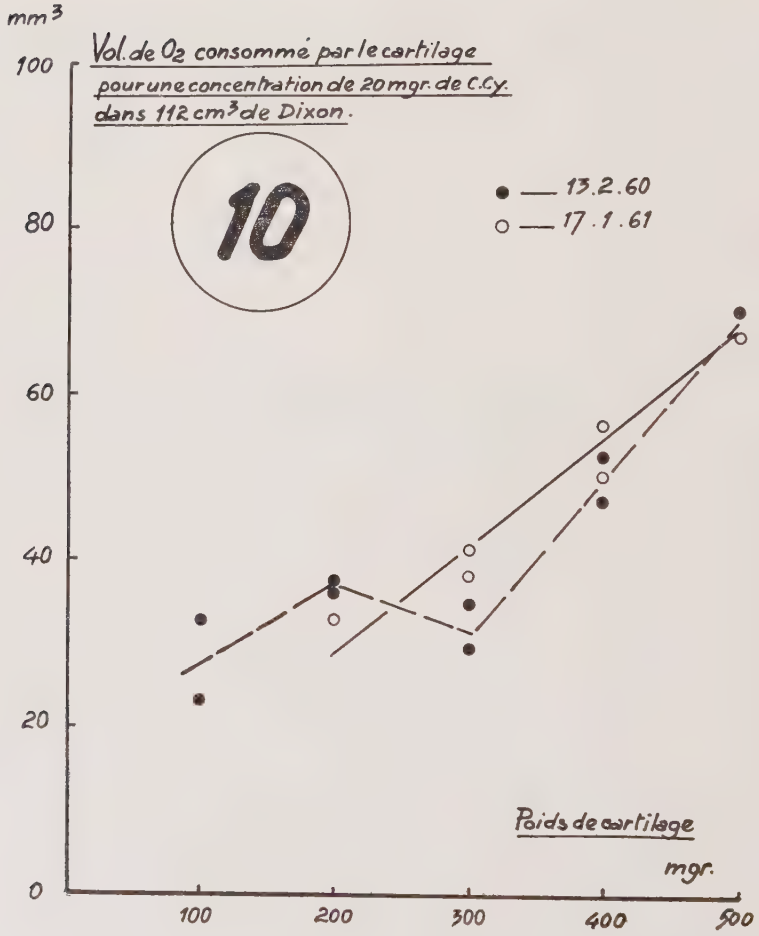
Cette partie de la courbe est suivie d'un plateau à pente faible et situé d'autant plus haut et apparaissant d'autant plus tard que la concentration en cystéine est élevée au départ.


mm3
Consommation d'Oxygène
par mgr. de cartilage sec
en présence de bleu de méthylène.
1,75
1,50
1,25
1,00
0,75
0,50
0,25
Addition de la cystéine en concentration
variable au milieu de suspension
125 mgr.
83 mgr.
50 mgr
20 mgr
Témoin
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
110
120
130
140
150
160
170
180
min.
8

2° Dans une deuxième série d'expériences nous avons étudié la consommation d'oxygène par des quantités de cartilage différentes en présence de glucose, de bleu de méthylène et de cystéine à concentration constante.

Les chiffres obtenus nous ont permis de tracer les courbes (9) et (10).





Elles montrent pour les concentrations de cystéine employées une proportionnalité entre la respiration et le poids de cartilage frais présent dans le flacon. Pour certains, cette proportionnalité n'est rigoureuse qu'à partir d'une certaine quantité de cartilage.

Les volumes d'oxygène consommés sont de l'ordre de ceux que nous avons notés en l'absence de l'acide aminé. Les droites représentant ces consommations varient d'ailleurs d'un cartilage à l'autre.

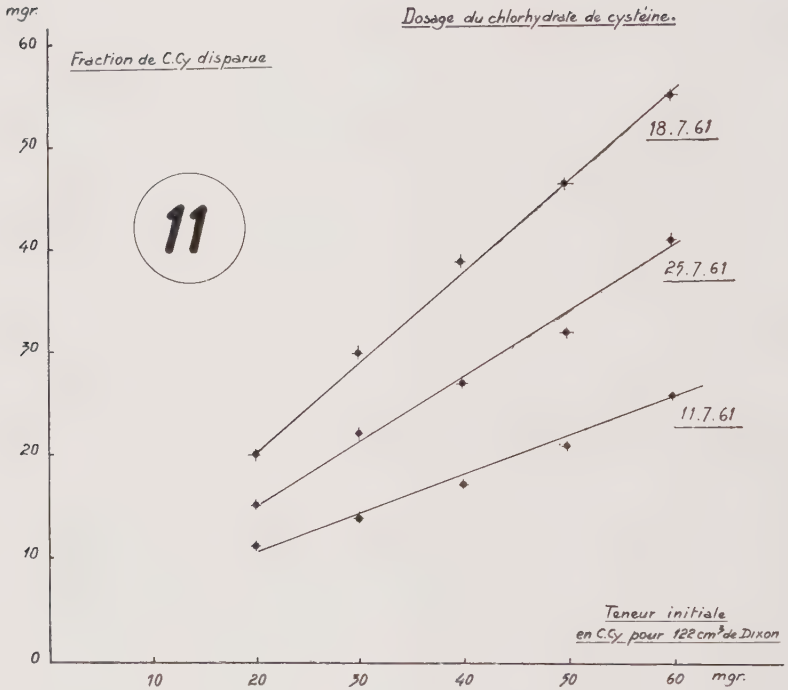
Enfin la décoloration du bleu de méthylène augmente avec la quantité de cartilage.

3° Enfin la dernière série d'expériences étudiait l'action de la cystéine à concentrations moyennes sur la glycolyse anaérobie ; on procédait au dosage de l'acide aminé en fin de séance.

Résultats de la glycolyse :

	Témoins	20 mg/ 122 cm³	30 mg/ 122 cm³	40 mg/ 122 cm³	50 mg/ 122 cm³	60 mg/ 122 cm³
5/7/61	0,77 0,78	0,76 0,77	0,68 0,75	0,75 0,715	0,74 0,70	0,69 0,73
11/7/61	0,815 0,85	0,875	0,915 0,92	0,76 0,85	0,90 0,86	0,78 0,72
18/7/61	0,90	0,91 0,97	0,84 0,89	0,85 0,81	0,93 0,91	0,83 0,77
27/7/61	0,99 0,95	0,90 0,92	0,85 0,88	0,90 0,88	0,94 0,99	0,92 0,94

Action du chlorhydrate de cystéine à concentrations variables sur la glycolyse anaérobie du cartilage pendant 120 minutes (résultats en mm³ de gaz carbonique par milligramme de cartilage sec et par heure).



Aux concentrations utilisées, la cystéine ne semble pas avoir d'action sur la glycolyse anaérobie comme l'indiquent les résultats précédents.

Par contre les dosages montrent un fait intéressant : c'est la disparition d'une partie ou de la totalité de l'acide aminé au bout de 60 minutes d'expérience.

Dans l'ensemble, la quantité disparue est proportionnelle à la concentration au départ (courbes 11).

Coloration vitale :

Les examens histologiques ont été faits avec la dernière série d'expériences et ont porté sur des concentrations en cystéine faibles et moyennes. Nous n'avons pas noté de modifications de la coloration du chondrocyte, que ce soit dans l'intensité, dans la localisation ou dans le temps d'apparition.

Discussion :

La première série de résultats et de courbes nous montre que la cystéine placée dans des conditions aérobies, consomme de l'oxygène pour son propre compte.

Fort probablement elle s'oxyde en cystine suivant le schéma.

$$2 \text{ molécules de cystéine} \xrightarrow{+ O_2} 1 \text{ molécule de cystine} + 1 \text{ molécule d'eau.}$$

Conjointement, il se forme peut-être de l'acide cystéique.

Les expériences faites en l'absence de cartilage indiquent qu'il n'y a pas d'interéaction entre la cystéine et le bleu de méthylène.

Il découle de ces faits que la respiration du cartilage va être masquée par la consommation d'oxygène de l'acide aminé, c'est ce que nous retrouvons pour les résultats des consommations d'oxygène en fonction des diverses concentrations de cystéine ; il en résulte que les courbes correspondantes sont difficiles à interpréter. Il semble cependant que deux hypothèses doivent être retenues :

— ou bien le cartilage empêche l'oxydation de la cystéine en l'absorbant ou en l'adsorbant puisqu'une oxydation préférentielle est impensable étant donné que le milieu est suffisamment saturé en oxygène pour assurer les deux consommations simultanément ;

— ou bien la consommation d'oxygène par la cystéine compense la diminution de la respiration du chondrocyte. L'existence de cette baisse semble être prouvée par la décoloration moins nette du colorant : une intoxication de la cellule cartilagineuse pourrait être à son origine.

Pour les fortes concentrations de cystéine il y a vraisemblablement association des deux phénomènes et la deuxième hypothèse paraît valable.

La deuxième série de résultats qui nous montre une consommation d'oxygène sensiblement proportionnelle au poids de tissu cartilagineux est en faveur de la première hypothèse. Les chiffres aberrants obtenus pour les petites quantités de certains cartilages semblent indiquer qu'ils n'ont pas tous la même avidité pour l'acide aminé et que dans le cas où cette fixation est faible, la cystéine restant dans le milieu de suspension s'oxyde et fausse les résultats.

De toute manière dans ces cas particuliers et à partir d'un certain poids de tissu tout rentre dans l'ordre et la consommation d'oxygène devient proportionnelle à la quantité de cartilage. Venant à l'appui de cette interprétation, nous notons que la respiration en fonction du poids de tissu cartilagineux est de l'ordre de celle rencontrée en l'absence de cystéine. Enfin, les arguments apportés par le dosage de l'acide aminé montrant une disparition d'une fraction importante des quantités présentes en début d'expérience, sont en faveur d'une absorption ou d'une adsorption du composé soufré ; cette fixation est fort probable car les nombreux travaux utilisant le soufre radioactif que nous citons dans cet ouvrage, ont montré l'affinité du cartilage pour les composés soufrés, *in vivo*. Ceci n'exclut pas d'ailleurs la possibilité d'une légère action toxique à ces concentrations moyennes et l'existence de cette toxicité serait mise en évidence, comme nous l'avons déjà remarqué, par une décoloration moins intense du bleu de méthylène que celle du témoin sans cystéine et par une légère dépression de la respiration.

Pour ces mêmes concentrations la glycolyse anaérobie ne semble pas être perturbée.

En conclusion, nous pouvons avancer que parmi tous les composés soufrés essayés, seule la cystéine a montré quelque originalité en paraissant avoir une action dépressive sur la respiration du cartilage aux concentrations utilisées et nous pensons que des recherches plus poussées nous permettront probablement de découvrir les mécanismes de cette action.

CONCLUSION

Nous avons essayé dans cette thèse, d'une part, de faire une mise au point de l'état actuel des connaissances sur le métabolisme du cartilage articulaire, d'autre part, d'apporter une contribution personnelle à son étude. Pour atteindre ce dernier but nous avons étudié par la technique manométrique de WARBURG les perturbations éventuelles que pouvaient apporter certaines modifications physiques ou chimiques du milieu de suspension à la respiration et à la glycolyse anaérobie du chondrocyte.

Les effets curateurs de l'hydrocortisone en thérapeutique antirhumatismale, l'intervention des molécules soufrées dans le métabolisme du cartilage nous ont incité à rechercher l'action que pouvaient avoir ces composés sur les activités respiratoire et glycolytique du tissu cartilagineux.

L'utilisation des composés soufrés n'a pas entraîné de variations sensibles, seule la cystéine a fait preuve d'une action particulière sur la respiration.

Par contre, l'hydrocortisone a montré, en l'absence de glucose, une inhibition nette de la respiration stimulée qui pourrait être à l'origine de l'effet thérapeutique favorable.

Enfin la recherche de solutions physiologiques convenant à la conservation des greffes cartilagineuses nous a conduit à mettre en évidence la sensibilité du chondrocyte aux variations importantes du pH du milieu de suspension. Pour les durées d'expérience employées nous avons pu noter l'existence d'une bande relativement large de pH favorables à la survie du chondrocyte.

Vu : *le Président de la Thèse,* Vu : *le Doyen,*
R. AUVERGNAT. LAZORTHES.

Vu et permis d'imprimer :
Toulouse, le 2 novembre 1961.
Le Recteur,
Président du Conseil de l'Université,
DOTTIN.

BIBLIOGRAPHIE

Albaum (H.G.), Hirschfeld (A.) et Sobel (A.E.). — Glycolytic enzymes and phosphorylated intermediates in preosseous cartilage. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* (1952), 79, 682-686.

Albaum (H.G.), Hirschfeld (A.) et Sobel (A.E.). — Adenosine triphosphate content of preosseous cartilage. *Proc. Soc. Exp. Biol Med.* (1952), 79, 238-241.

Amprino (R.). — Autoradiographic research of S 35 sulphate metabolism in cartilage and bone differentiation growth. *Acta. Anat.* (1955), 24, 121-163.

Anderson (C.E.). — Formation, structure and function of cartilage. *California Medical* (1959), 91, n° 6, 321-6.

Arlet (J.). — Histologie et physiologie de l'articulation normale. *Toulouse Médical* (1953, juillet), 457-475.

Arlet (J.), Mole (J.) et Bariusso (L.). — Etudes histologiques concernant le cartilage articulaire de bovidé à l'état frais. I. Critères de vitalité des chondrocytes. *Revue du Rhumat. et des mal. ostéoart.* (1958, juillet-août), n° 7-8, 25.

Auvergnat (R.), Arlet (J.), Oustrin (J.), Bariusso (L.) et Mole (J.). — Réduction et ralentissement de la consommation d'oxygène du cartilage articulaire de veau par l'hydrocortisone. *Compte rendus des séances de la Soc. de Biol.* (1958), 152, n° 5, 855.

Barbieri (E.), Bastiani (G. de). — Beta cellule pancreatiche e metabolismo della cartilagine di accrescimento. III. Azione del glucoso I fosfato e del fruttoso sub contenuto de A.T.P. e cocarbossilasi della cartilagine di accrescimento in carenza de insulina. *Atti. Soc. Lombarda Sci. Med. biol.* (1958), 13, n° 2, 240-2.

Bauer (W.), Ropes (M.) et Waine (H.). — The physiology of articular structure. *Physiol. rev.*, (1940), 20, 272.

Belanger (L.F.). — Autoradiographic visualization of entry and transit of S 35 in cartilage, bone and dentine of young rats and effects of hyaluronidase in vitro. *Canad. J. of. Biochem. and Physiol.* (1954 mai), 32, 161-169.

Belanger (L.F.). — Autoradiographic studies of the formation of the organic matrix of cartilage, bone and the tissue of teeth. *Ciba foundation symposium on bone structure and metabolism* (1954), 75-88.

Bennett (G.), Bauer (N.). — Study on the repair of articular cartilage and the reactions of normal joints of adults dogs to surgically created defects of articular cartilage, joint mice and patellar displacement. *Am. J. of. Path.* (1952), 8, 499.

Bernardi (G.), Cessi (C.), Gotte (L.). — On chondroitin sulphate and mucoproteins from cartilage. *Experientia, Suisse* (1957), 13, n° 12, 465-6.

Bernardi (G.), Happey (F.), Naylor (A.). — Mucopolysaccharides from cartilage and nucleus pulposus. *Nature G.B.* (1957), 180, n° 4598, 1341-42.

Bingel (K.), Beit. — Ortlicher Stoffwechsel und Gewelsreaktion über die Beeinflussung transplantierter Knorpelstucke durch Gewebsfrende Umgebung und durch Applikation von Salzlosungen oder Organaextrakt. Z. *Path. Anat. u. z. allg. Path.* (1937), 99, 205-223.

Boström (H.). — On the sulphate exchange of sulfomucopolysaccharides in connective tissue in health and disease. *Copenhaguen Münksgaard* (1954), 97-102.

Boström (H.), Jorpes (E.). — On the enzymatic exchange of the sulphate group of the animal sulpho-mucopolysaccharides. *Experientia* (1954), 10, n° 9, 392-396.

Boyd (E.S.), Neuman (W.F.). — Chondroitin sulphate synthesis and respiration in chick Embryonic cartilage. *Arch. Biochem.* (1954), 51, 475-486.

Bray (H.G.), Gregory (J.E.), Stacey. — Chemistry of tissues. I. Chondroitin from cartilage. *Biochem. J.* (1944), 38, 142-46.

Brower (T.D.), Orlic (P.). — The localization of chloride in epiphyseal disc cartilage as determined by histochemical techniques. *J. Bone Joint. Surg. Amer. Edit.* (1959), 41-A, n° 8, 1517-20.

Bryant (J.H.), Leder (I.G.), Stetten (De W.). — The release of chondroitin sulphate from rabbit cartilage following the intravenous injection of crude papain. *Arch. Biochem. Biophys.* (1958), 76, n° 1, 122-30.

Bucher (U.). — Befunde nach experimentellen Gelenkknorpeldefelkten beim Meerschweinchen. *Schweitz Z. allg. Path. Bakteriol.* (1955), 18, n° 2, 185-197.

Bunting (H.). — Distribution of mucopolysaccharides in mammalian tissues as revealed by histochemical methods. *Annals of the New York Acad. of. Sci.* (1950), 52, 977.

Burk (D.). — Symposium on respiratory enzymes. *Univ. of. Wisconsin Press. Wisconsin* (1942), 235.

Bywaters (E.G.L.). — Metabolism of joint tissues. *J. of. Path. and Bacteriol. (Londres)* (1937), 44, 247.

Chrisman (O.D.), Bechtol (C.O.), Coelho (R.R.), Brenan (R.). — Sulphur metabolism in cartilage. I. Joint fluid sulphate. *J. Bone and Joint Surg.* (1958 avril), 40 A, 457-461

Coelho (R.R.), Chrisman (O.D.). — Metabolisme du sulfate dans le cartilage. Fixation du sulfate marqué dans les coupes de cartilage. *J. Bone and Joint Surg.* (1960) 42-A, n° 1, 165-72.

Collins (D.H.), Meachim (G.). — Sulphate (35 SO_4) fixation by human articular cartilage compared in the knee and the shoulder joints. *Annals of the Rheumat. Dis.* 1961, 20, n° 2, 117-122.

Collins (D.H.), Mc Elligot (T.F.) (1960). — *Annals of Rheumat. Dis.*, 19, 318.

Craigmyle (M.B.L.). — An autoradiographic and histochemical study of long term cartilage grafts in the rabbit. *J. Anat.* (1958 juillet), 92, 467-472.

Curran (R.C.), Gibson (T.). — The uptake of labelled sulphate by human cartilage cells and its use as a test for viability. *Proc. Roy. Soc. London* (1956), série B 144, 917, 572-576.

Denko (C.W.), Bergenstal (D.M.). — The effect of hypophysectomy and growth hormone on S^{35} fixation in cartilage. *Endocrinology U.S.A.* (1955), 57, n° 1, 76-86.

Desnuelle (P.), Rovery (M.), 1947. — *Biochem. Biophys. Acta.*, 1, 504.

Dickens (F.), Simer (F.). — Observations on tissue glycolysis. The effects of fluoride and some other substances. *The Biochem. J.* (1929), 23, 936.

Dickens (F.), Weil-Malherbe (M.). — Metabolism of cartilage. *Nature-London* (1936 juillet), 138, 125-126.

Dixon (M.). — Manometric methods as applied to the measurement of cell respiration and other processes. *Cambridge University Press* (1951) *third edition.*

Dunstone (J.R.). — Ion — exchange reactions between cartilage and various cations. *Biochem. J. G.B.* (1960), 77, n° 1, 164-70.

Dziewiatkowsky (D.D.). — Isolation of chondroitin suiphate S^{35} from articular cartilage of rats. *J. Biochem. Chem.* (1951), 190, 187-189.

Dziewiatkowsky (D.D.). — Radioautographic studies of sulphate sulphur S^{35} metabolism in the articular cartilage and bone of suckling rats. *J. Exper. Med.* (1952), 95, 489-496.

Dziewiatkowsky (D.D.). — Effect of age on some aspects of sulphate metabolism. *Exp. Med.* (1954), 99, 283-298.

Eichelberger (L.), Brower (T.D.), Roma (M.). — Histochemical characterizations of inorganic constituants connective tissue and the chondroitin sulphate of extracellular and intracellular compartments of hyalin cartilage. *Amer. J. of. Physiol.* (1951), 166-328.

Eichelberger (L.), Akeson (W.H.), Roma (M.). — Biochemical studies of articular cartilage. I Normal values. *Amer. edit.* 1958, 40, n° 1, 142-52.

Eichelberger (L.), Akeson (W.H.), Roma (M.). — Biochemical studies of articular cartilage. II. Values following the denervation of an extremety. *Amer. Edit.* (1958), 40, n° 1, 153-62.

Ekiholm (R.). — Nutrition of articular cartilage. A radioautographic study. *Acta. Anat. Suisse* (1955), 24, n° 3-4, 329-38.

Elliott (H.C.). — Studies on articular cartilage I. Growth mechanism. *Am. J. Anat.* (1936), 58, 127-145).

Engfeldt (B.), Westerborn (O.). — An autoradiographic study of the epiphyseal cartilage in papain treated rabbits after administration of radiosulphate. *Acta. Path. Microbiol. Scand.* (1960), 49, n° 1, 55-72.

Exer (B.), Lagier (R.). — A study of the chemical composition of the costal cartilage of the guinea pig in relation to the weight and age of the animal. *Gerontologia. Suisse* (1958), 2, n° 3, 156-173.

Farber (S.J.), Schubert (M.), Schustern. — The binding of cations by chondroitin sulfate. *J. Clin. Invest.* (1957), 36, 1715-1722.

Field (J.). — Respiration of tissue slices in methods of medical research. Ed. by. (W.R.) Potter, (H.) Welch, (H.D.) Green And (A.C.) Ivy. *The yearbook Publisher Inc. Chicago Illinois,* 1, 889 (1948).

Follis (R.H. jr). — Histochemical studies on cartilage and bones. II. Ascorbic deficiency. *Bull. of. John Hopkins Hosp.* (1951), 89, n° 1.

Follis (R.H. jr). — Chemical differentiations of cartilage and bone. II. Sulfatase activity. *Proc. Soc. Biol. Med.* (1951), 77, 847.

Follis (R.H. jr) et Melanette. — Dehydrogenase activity of rat epiphyseal cartilage. *Proc. Soc. et Exp. Biol. Med.* (1956), 93, 382-84.

Freund (E.). — Joint cartilage under differing physiological demands. *Arch. Surg. Chicago* (1939), 39, 596.

Garner (E.). — Physiology of movable joints. *Physical Rev.* (1950), 30, n° 2.

Gibson (A.). — Hyaline cartilage degeneration and regeneration. *Canad. Med. Associat. J.* (1955), 78, n° 6, 442.

Gibson (T.). — Viability of cartilage after freezing. *Proc. Roy. Soc.* (1957) 147, n° 929, 528-29.

Grant (R.A.), Hathorn (M.), Gillman (T.). — Chemical changes in rabbit aorta and car cartilage induced by papain and calciferol. *Biochem. J. G.B.* (1960), 76, n° 2, 412-415.

Gross (J.I.), Mathews (M.B.), Dorfman (A.). — Sodium chondroitin sulfate-protein complexes of cartilage. II. Metabolism. *J. Biol. chem. U.S.A.* (1960), 235, n° 10, 2889.

Hadazy (C.), Olah (E.). — Untersuchungen über die Knorpelbildung Problemstellung und allgemeine histologische. Untersuchungen unter Neodifferenzierungsverhaltnissen. *Acta. Biol. Acad. Sci. Hung.* (1958), 9, n° 2, 139-58.

Hadazy (C.), Kostenzky (K.), Olah (E.). — Untersuchungen über die Knorpelbildung. II. Vaskularisationsverhaltnisse bei der Gelenkbildung. *Acta. biol. Acad. Sci. Hungar.* (1959), 9, n° 3, 271-83.

Hagerty (R.F.), Calhoon (T.B.), Lee (W.H.), Cuttino (J.T.). — Characteristics of fresh human cartilage. *Surg. Gynecol. Obstet. J.* (1960), 110, n° 1, 3-8.

Hagerty (R.F.), Calhoon (T.B.), Lee (W.H.), Cuttino (J.T.). — Human cartilage grafts stored in merthiolate. *Surg. Gynecol. Obstet. J.* (1960), 110, n° 2, 229-233.

Hagerty (R.F.), Calhoon (T.B.), Lee (W.H.), Cuttino (J.T.). — Human cartilage stored in plasma. *Surg. Gynecol. Obstet.* (1960), 110, n° 3, 277-281.

Hagerty (R.F.), Calhoon (T.B.), Lee (W.H.), Cuttino (J.T.). — Human cartilage grafts stored in air. *Surg. Gynecol. Obstet. U.S.A.*, 1960, 110, n° 4, 433-6.

Haines (A.L.). — The effect of estrogen on cartilage and bone in castrate C 3 H mice. *Yales J. Biol. Med.* (1957), 30, n° 2, 121-136.

Hass (G.M.), Gartwaite. — Studies of cartilage. I. Some effects of medium of different pH values on the composition of cartilage. *Arch. Path.* (1942), 33, n° 2, 145.

Hass (G.M.). — Studies of cartilage. II. A quantitative study of the stabilizing action of crystal violet on tissue polysaccharide compound. *Arch. Path.* (1942), 33, n° 2, 163.

Hass (G.M.). — Studies of cartilage. III. A new histochemical reaction with high specificity for cartilage cells. *Arch. Path.* (1942), 33, n° 2, 174.

Holmdahl (D.E.), Ingelmark (B.E.). — Contact beetween articular cartilage and medullary cavities of bones. *Acta. Anat.* (1951), 12, 341-349.

Hulth (A.). — Experimental retardation of endochondral growth by papain. *Acta. Orthop. Scand.* (1958), 28, n° 1, 1-21.

Hurrel (D.J.). — The vascularisation of cartilage. *J. Anat.* (1934-35), 69, 47.

Imerlishvili. — Etude expérimentale de la régénération du cartilage articulaire. *Arkh. Anat. Gistol. Embriol S.S.S.R.* (1957), 34, n° 2, 58-71.

Ingelmark (B.E.), Saaf (J.). — Nutrition of joint cartilage and formation of articular fluid in various fonctional states. *Acta Orthop. Scand.* (1948), 17, 303-357.

Iob (V.), Swanson (W.W.). — The extracellular and intracellular water in bone and cartilage. *J. Biol. Chem.* (1937-38), 122, 485-490.

Kantort (G.), Schubert (M.). — La différence de perméabilité du cartilage aux colorants cationiques et anioniques. *J. Histochen. Cytochem. U.S.A.* (1957), 5, n° 1, 28-32.

Kredel (F.E.), Roberts (W.J.). — Supravital staining of cartilage. *Proc. Akad. wet. Amsterdam* (1935), 38, 216.

Kuhn (R.), Leppelmann (H.J.). — Galaktosamin und Glucosamin im knorpel in Abhangigkeit vom Lebensalter. *Ann. Chem. Dtsch.* (1957), 611, n° 1-3, 254-8.

KUWABARA (G.). — Metabolism of cartilage and callus tissue. *J. of. Biochem.* (1932 novembre), 16, 289-402.

LASH (J.W.), WHITEHOUSE (M.W.). — Variation in the polysaccharide composition of cartilage with age. *Arch. Biochem. Biophys. U.S.A.* (1960), 90, n° 1, 159-60.

LASKIN (D.M.), SARNAT (B.G.). — The metabolism of fresh transplanted and preserved cartilage. *Surg. Gynecol. Obst. J.* (1953), 96, n° 4, 493.

LAWES (W.). — Histologische untersuchungen über die wirkung der Hyaluronidase auf Knorpel. *Klin. Wehnschr.* (1948), 26, 534-36.

LECOMTE (J.), VAN CAUWENBERGE (H.). — Les dérivés de la cystéine sont-ils des anti-inflammatoires ? *C. R. Soc. Biol. Fr.* (1957), 151, n° 3, 609-11.

LEPPELMANN (H.J.). — Der Mukopolysaccharidgehalt des Knorpels in Abhängigkeit vom Lebensalter. *Z. Rheumaforsch. Dstch* (1959), 18, n° 9-10, 348-54.

LILLIE (R.D.), GRECO (J.), LASKEY (A.). — Histochemical studies with malt diastase : partial separation of the fractions destroying cytoplasmic basophilia (ribonucleic acid) and the metachromasia of cartilage. *Anat. Record. Philadelphia* (1949), 103.

LOEWI (G.). — Changes in the ground substance of ageing cartilage. *J. Path. Bact.* (1953), 65, 381.

LOISELEUR (J.). — Tampons de CLARK et LUBS. Techniques de Laboratoire. *Masson et Cie édit.* (1954), 2e édition, 20-21.

LUTWAK-MANN (C.). — Enzyme systems in articular cartilage. *J. of. Biochem.* (1940 avril), 34, 517-527.

MC CLUSKEY (R.T.), THOMAS (L.). — The removal of cartilage matrix in vivo by papain. Identification of crystalline papain protease as the cause of the phenomenon. *J. Exper. Med. U.S.A.* (1958), 108, n° 3, 371-84.

MATTHEWS (S.B.F.). — Collagen/chondroitin sulfate ratio of human articular cartilage related to function. *Brit. Med. J.* (1952), 2, 1295.

MATTHEWS (S.B.F.). — Composition of cartilage in osteoarthritis. *Brit. Med. J.* (1953 septembre), 19.

MEYER (K.). — Chemistry of connective tissue polysaccharides. Trans. of the Ist. conf. of. connect. tissue. *John Mary Foundation.*

Miyazaki (T.). — Biochemical studies on carbohydrates. II. The quantitative observation of chondroitin sulfuric acid in cartilage and bone. *J. of. Biochem.* (1934), 20, 223-231.

Mond (R.), Hoffmann (F.). — Untersuchungen über die Permeabilität der Knorpelzellen. *Pflüger Archiv. für die gesamte Physiologie* (1929), 221, 460.

Montagna (W.). — Glycogen and lipids in human cartilage with some cytochemical observations on the cartilage of the dog, cat and rabbit. *Anat. Rec.* (1949), 103, 77.

Morner (C. Th.). — Chemische studien über den trachea Knorpel. *Skandinavisches Archiv. J. Physiol.* (1889), I, 210-243.

Olah (E.), Hadazy (C.), Kostensky (K.). — Untersuchungen über die Knorpelbildung. III. Hämoglobin uns Milchsauregehalt der regenerierenden Gelenkfläche in verschiedenen regeneratiosstadien. *Acta. Morph. Acad. Sci. Hungar* (1959), 9, n° 1, 45-61.

Ostrowski (K.), Kostek (T.). — Studies on the vitality of tissues preserved in low temperatures. *Bull. Acad. Polonaise Sci.* (1953), 1, n° 1, 11.

Ostrowski (K.), Sawicki (W.). — Comparison of the viability of rat cartilage evaluated by autoradiography and neutral red stainning. *Bull. Acad. Pol. Sci. Ser. Sci. Biol.* (1959), 7, n° 7, 253-258.

Partridge (S.M.), Davis (H.F.). — The chemistry of connective tissues. IV. The presence of a non collagenous protein in cartilage. *Biochem J. G.B.* (1958), 68, n° 2, 298-305.

Peacock (E.E. jr), Weeks (P.M.), Petty (J.M.). — Some studies on the antigenicity of cartilage. *Ann. New-York Acad. Sci.* (1960), 87, n° 1, 175-84.

Picard (J.), Cartier (P.). — La minéralisation du cartilage ossifiable. Glycolyse et glycogénolyse du cartilage. Influence des phospho dérivés du catabolisme glucidique sur le métabolisme et la minéralisation du cartilage. *Bull. Soc. Chim. Biol.* (1956), 38, n° 4, 597-715.

Picard (J.), Cartier (P.). — La minéralisation du cartilage ossifiable. IX. Fixation de diverses formes de phosphore par le cartilage ossifiable de rat jeune normal et de rat jeune rachitique. *Bull. Soc. Chim. Biol. Fr.* (1961), 42, n° 8-10, 1105-16.

POLICARD (A.). — Physiologie générale des articulations à l'état normal et pathologiques. *Masson et Cie édit.* (1937).

RIZZOLI (C.), MASTROBUONO (M.). — Ricerche sulle caratteristiche istochimiche della cartilagine ialina umana nelle diverse eta. *Boll. Soc. Ital. Biol. sper.* (1955), 31, n° 3-4, 223-6.

ROSENTHAL (O.), BOWIE (M.A.), WAGONER (G.). — Studies of cells in normal and arthritic bovine cartilage. *Amer. J. Med.* (1941), 201, 489.

ROSENTHAL (O.), BOWIE (M.A.), WAGONER (G.). — Studies on the metabolism of articular cartilage. *J. of. cellular and comparated Physiol.* (1941 avril), 17, n° 2, 221.

ROSENTHAL (O.), BOWIE (M.A.), WAGONER (G.). — The nature of the dehydrogenatic ability of bovine articular cartilage. *J. of cell. and comparated Physiol.* (1942 février), 19, n° 1, 15.

RUCKES (J.), REISSLAND (G.). — Untersuchungen über den Gewebsstoffwechsel von Stratum synoviale und Gelenkknorpel des Kniegelenkes beim Kaninchen. *Z. Rheumaforsch. Disch.* (1960), 19, n° 3-4, 135-8.

SAAF (J.). — Effects of exercise on adult articular cartilage. *Acta Orthop-Scand.* (1950), suppl. n° 7.

SALTER (R.B.), FIELD (P.). — The effect of continuous compression on living articular cartilage. An experimental investigation. *J. Bone Joint. Surg. Amer. édit.* (1960), 42-A, n° 1, 31-49.

SHATTON (J.), SCHUBERT (M.). — Isolation of a mucoprotein from cartilage. *J. Biol. Chem.* (1954), 211, n° 2.

SHEEHAN (J.F.). — A cytological study of the cartilage cells of developping long bones of the rat with special reference to the Golgi apparatus, mitochondria neutral red bodies and lipids inclusions. *J. Morph.* (1948), 82, 151-199.

Shetlar (M.R.), Masters (Y.F.). — Effect of age on polysaccharide composition of cartilage. *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.* (1955), 90, n° 1, 31-3.

Silberberg (M.), Silberberg (R.). — Growth processes in cartilage and bone subsequent to gonadectomy and administration of anterior pituitary extract of cattle in immature male and female guinea pigs. *Am. J. Path.* (1939), 15, 55.

Strangeways (T.P.S.). — On the nutrition of articular cartilage. *British Med. J.* (1920), 1, 661-663.

Subba Rao (K.V.). — An experimental study of regeneration of cartilage. *J. Path. and. Bact.* (1954), 67, n° 2, 455.

Sylven (B.). — Cartilage and chondroitin sulfate. I. The physiological role of chondroitin sulfate in cartilage. *J. Bone Joint. Surg.* (1947), 29, 745.

Sylven (B.). — Cartilage and chondroitin sulfate. II. Chondroitin sulfate and the physiological ossification of cartilage. *J. Bone Joint. Surg.* (1948), 30-A, n° 1, 158.

Sylven (B.). — Cartilage and chondroitin sulfate. III. Chondroitin sulfate and inflammatory lesions of cartilage. *J. Bone Joint. Surg.* (1948), 30-A, nw 1, 158.

Thomas (W.C. jr), Pickett (W.C.). — Affinity of cartilage matrix for calcium. *Amer. J. Physiol.* (1960), 199, n° 1036.

Tsaltas (T.T.). — Papain induced changes in rabbit cartilage. Alterations in the chemical structure of the cartilage matrix. *J. Exper. Med. U.S.A.* (1958), n° 4, 507-513.

Umbreit (W.W.), Clark (I.). — The effect of cortisone and others steroids upon in vitro synthesis of acid chondroitin sulfuric. *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.* (1954), 86, 558-561.

Umbreit (W.W.), Burris (R.H.), Stauffer (J.F.). — Manometric techniques. *Burgess Publishing. CO Mineapolis* (1957), *third edition.*

Valdiguié (P.), Auvergnat (R.), Bru (A.), Douste-Blazy (L.). — Sur l'origine du soufre du tissu cartilagineux. *Bull. Soc. de Chim. Biol.* (1955), 37, n° 5-6, 677-682.

Viernstein (K.). — Métabolisme du cartilage. *Z. f. Orthop.* (1959), 92, 4-10.

Vinogradova (T.P.). — Sur la physiologie du tissu cartilagineux chez l'homme. *Arkh. Patol S.S.S.R.* (1956), 18, n° 2, 24-30.

Warburg (O.). — La formation des cellules cancéreuses. *Triangle* (1956 septembre), n° 6, 202-208.

Table des Matières

Introduction 13

Chapitre premier. — Historique 17

Chapitre II. — Matériel et Technique 29

Chapitre III. — Résultats 33

Première Partie 34

Deuxième Partie 42

— Action du pH du milieu de suspension sur la respiration stimulée. 42

— Action de l'hydrocortisone sur la respiration stimulée. 49

— Action des composés soufrés sur la respiration et la glycolyse du cartilage. 54

Conclusion 73

Bibliographie 75